

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO**INDICE**

1	INTRODUZIONE.....	4
2	LE MICORRIZE.....	6
2.1	Ectomicorrize.....	7
2.2	Ecto-endomicorrize.....	8
2.3	Endomicorrize.....	8
2.4	Le endomicorrize arbuscolari.....	9
2.5	Effetti delle micorrize.....	11
2.6	Le micorrize naturali dell'olivo.....	12
2.7	L'uso delle micorrize nell'arboricoltura moderna.....	12
3	IL VIVAISMO OLIVICOLO.....	14
3.1	Il vivaismo olivicolo in Italia e nei paesi moderni.....	14
3.2	Il vivaismo pesciatino.....	15
3.3	S.P.O. Società Pesciatina d'Orticoltura.....	15
3.4	Sistema produttivo aziendale.....	16
3.5	Propagazione per talea.....	17
3.5.1	Trattamenti alle talee.....	18
3.5.2	Basi anatomiche della radicazione.....	21
3.6	La propagazione dell'olivo per innesto.....	22
3.6.1	Innesto a corona "a penna".....	24
3.6.2	Attecchimento dell'innesto e affinità.....	27
3.6.3	Cure del materiale vegetale dopo l'innesto.....	27

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

3.6.4	Cantiere di lavoro e materiale per l'innesto.....	29
3.6.5	Standard produttivi del vivaismo olivicolo.....	29
4	SCOPO DELLA RICERCA.....	31
5	MATERIALE E METODI.....	33
5.1	Tipo di inoculo impiegato.....	33
5.2	Piante propagate per talea.....	34
5.2.1	Rilievi agronomici.....	35
5.2.2	Rilievi distruttivi eseguiti a fine crescita.....	36
5.2.3	Rilievi metrici.....	37
5.3	Rilievo della fotosintesi.....	38
5.3.1	Sistema C.C.C	38
5.3.2	Sistema portatile per il rilievo della fotosintesi	39
5.4	Rilievo infezione radicale.....	41
5.5	Astoni propagati per innesto.....	42
5.5.1	Rilievi agronomici	43
5.6	Area fogliare.....	45
5.7	Efficacia dell'inoculo.....	46
6	RISULTATI E DISCUSSIONE.....	49
6.1	Effetti della micorizzazione su piante propagate per talea...	49
6.2	Attività fotosintetica delle piante micorrizzate.....	59
6.3	L'efficacia dell'inoculo.....	65
6.3.1	Verifica della presenza del fungo nelle radici.....	66

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

6.4	Effetto della simbiosi su piante della cv.Frantoio propagate per innesto.....	68
7	CONCLUSIONI.....	74
	BIBLIOGRAFIA.....	77

CAPITOLO 1.

INTRODUZIONE

Il vivaismo olivicolo rappresenta un settore molto importante delle produzioni agricole nazionali. Obiettivo fondamentale di questa particolare attività è quella di produrre piante d'olivo da destinare ai nuovi impianti con elevate caratteristiche qualitative: principio necessario e indispensabile per il successo del futuro oliveto.

In Italia la domanda di piantine d'olivo risponde a situazioni di tipo congiunturale dipendenti dagli "umori" del comparto (sussidi comunitari, prezzi delle olive e/o dell'olio) piuttosto che di tipo strutturale come la quota per la rimonta di oliveti obsoleti. In altri termini si producono piantine per nuovi impianti e non per sostituire quelli già esistenti (Godini A. 2007). Tale andamento è dovuto anche ad un sistema legislativo nazionale che impedisce sostanzialmente l'abbattimento di alberi d'olivo (D L luogo tendenziale del 27/ 07/ 1945 n° 475 e la legge n° 144 del 14/ 2/ 1951). Questo ha portato, soprattutto negli ultimi anni, alla realizzazione di nuovi oliveti in aree non sempre vocate, per esempio soggette a periodi di carenza idrica. Gli olivicoltori, per sopperire a fattori ambientali sfavorevoli, sono stati obbligati nella scelta di un ottimo materiale vegetale di partenza, capace quindi di tollerare queste condizioni, senza pregiudicare la crescita e la produzione dell'oliveto.

Durante gli ultimi decenni, infatti, la ricerca scientifica ha concentrato i propri sforzi proprio nel potenziare il livello qualitativo del materiale vegetale, introducendo varie tecniche come ad esempio l'impiego di trattamenti rizogeni alle talee, l'individuazione di epoche di taleggio più appropriate, l'applicazione della nebulizzazione e del riscaldamento basale, l'introduzione di nuove tecniche di forzatura e di substrati nell'allevamento in contenitore.

Esistono comunque ancora margini di miglioramento nel settore e una nuova frontiera è rappresentata dall'introduzione di alcune **biotecnologie**, tra le quali, molto interessante, è quella basata sull'induzione di simbiosi mutualistica tra funghi micorrizici arbuscolari e pianta ospite.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

Grazie a tale simbiosi la pianta acquisterebbe un maggior potenziale di accrescimento e potrebbe sopportare meglio gli stress cui è sottoposta dal momento della sua produzione in vivaio fino al termine della sua vita produttiva.

Con questa tecnica innovativa, il vivaista potrebbe produrre piante di qualità ancora più elevata, capaci quindi, di rispondere al meglio a stress post-trapianto.

Non solo, guardando in un'ottica ancora più ampia, tale tecnica potrebbe migliorare e favorire il settore dell'olivicoltura biologica, per la quale sono richieste piante ottenute con procedure diverse da quelle comunemente applicate.

Quindi la messa a punto di un schema produttivo di piante d'olivo micorrizzate in vivaio potrebbe rappresentare un grande passo in avanti nel miglioramento della qualità del materiale vegetale e garantire al coltivatore una pianta più resistente e performante.

CAPITOLO 2.

LE MICORRIZE

Per micorrize (dal greco *mykes* = fungo e *rhiza* = radice), termine coniato nel 1882 dal patologo tedesco B. Frank che ne diede anche una prima descrizione completa, si fa riferimento proprio a una simbiosi e più precisamente a una simbiosi mutualistica ovvero, ad un rapporto in cui entrambi i partecipanti si scambiano benefici reciproci. Sinteticamente, il fungo riceve dalla pianta zuccheri che altresì non potrebbe sintetizzare mentre la pianta riceve acqua e sali minerali, assorbiti dal terreno attraverso la estesa rete miceliare extraradicale.

Negli ultimi decenni, sotto l'impulso di una agricoltura sostenibile, questi studi sono stati reintrodotti ed approfonditi dalle comunità scientifiche di tutto il mondo. Allo stato attuale si può affermare che la maggior parte delle specie vegetali in condizioni naturali, risulta essere micorrizzato (6000 specie fungine e 240000 specie di piante). Sono molto diffuse tra le piante arboree forestali come il larice, il pino, l'abete , la betulla, le querce, il castagno, l'olivo ed il nocciolo ed interessano alcune migliaia di specie fungine di Ascomiceti e Basidiomiceti.

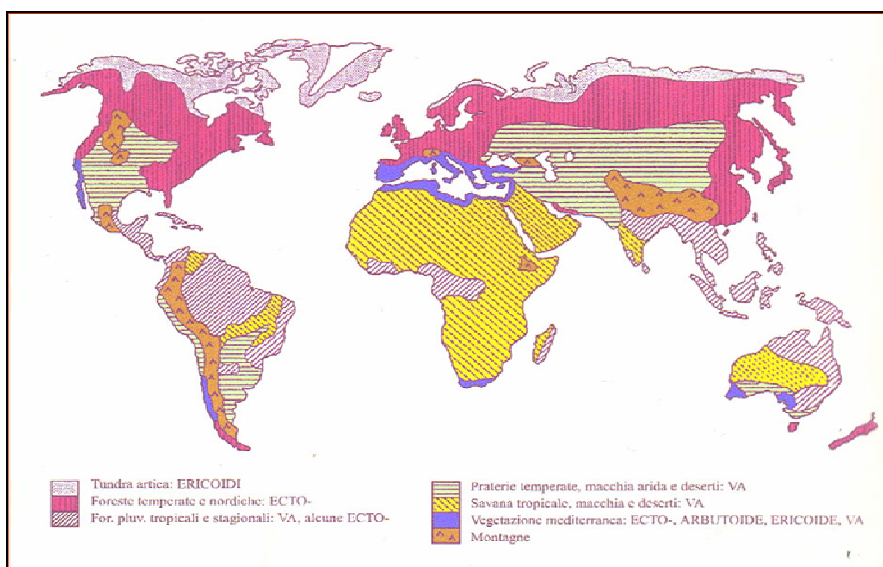


Fig 1_Corologia delle micorrize naturali. Distribuzione mondiale delle micorrize in natura, suddivisa in areali.

Addirittura sono stati trovati resti fossili che confermano l'esistenza di endomicorrize già 450 milioni di anni fa, contemporaneamente all'apparizione dei vegetali sulle terre emerse. Si ritiene che siano state fondamentali nel processo di colonizzazione dei continenti e, a tutt'oggi, sono ancora necessarie per la vegetazione contemporanea. Tuttavia, negli ambienti antropizzati, come i campi coltivati, le micorrize sono spesso assenti, oppure presenti in forma molto ridotta, molto probabilmente a causa dell'inquinamento chimico dei terreni.

E' comunque bene ricordare che se le piante sono in grado di vivere senza l'aiuto dei funghi, seppur con minore possibilità di sviluppo, per alcuni funghi, al contrario, il rapporto di simbiosi con le piante rappresenta la condizione necessaria per la sopravvivenza: essi infatti sono simbionti obbligati.

Attualmente si conoscono tre differenti tipologie di micorrize distinguibili in base alle caratteristiche morfo-funzionali e fisiologiche: ectomicorrize, ecto-endomicorrize e endomicorrize (Smith e Read, 1997).

2.1 - ECTOMICORRIZE

Primo e fondamentale elemento distintivo di queste simbiosi è che il fungo rimane all'esterno dei tessuti cellulari con la formazione di uno pseudo parenchima, che prende il nome di "*micoclona*". Il fungo avvolge gli apici radicali, formando una struttura simile ad una clava e visibile anche ad occhio nudo. La crescita della radice è bloccata e il mantello o micoclona, spinto dalle radichette secondarie, entra in proliferazione cellulare e ingloba nuove radici laterali la conseguenza finale è che scompaiono i peli radicali. E' fondamentale dire che la mancanza di peli radicali e la copertura completa della parte funzionale delle radichette deputate all'assorbimento minerale, comportano, come conseguenza, il fatto che tutti i nutrienti minerali che entrano nella pianta devono passare attraverso il complesso fungino prima di entrare nella pianta stessa. Dalla micoclona le ife si dipartono raggiungendo lo spazio intercellulare, dove formano una specie di rete detta "*reticolo di Harting*" che permette l'interscambio di nutrienti fra pianta e fungo.

La dimensione del reticolo dipende dall'ospite, per esempio nelle conifere raggiunge il cilindro centrale, nelle latifoglie invece si limita ai primi stadi

della corteccia. Dal mantello, in direzione opposta, si sviluppano nel terreno circostante, le ife e i cordoni miceliari che andranno a costituire il " carpoforo" (struttura riproduttiva del fungo).

2.2 - LE ECTO-ENDOMICORRIZE

Sono quelle simbiosi in cui il fungo instaura un contatto più profondo con l'ospite rispetto alle ectomicorrize. Le due strutture che sono state precedentemente descritte, il reticolo di Harting e la micoclona, sono comunque presenti ma in questo caso le ife del fungo raggiungono il primo strato cellulare del tessuto corticale. Possono essere distinte in micorrize " arbutoidi" e micorrize "monotropoidi": le prime colonizzano le piante del genere *Ericales* (*Arbutus unedo*, *Arctostaphylos*) mentre le seconde si trovano nei generi come *monotropa* e *pyrola*.

2.3 - LE ENDOMICORRIZE

Si distinguono dai precedenti gruppi per la principale caratteristica di penetrare totalmente all'interno della radice senza differenziare alcuna struttura esterna. Dopo la germinazione delle spore che si trovano nel terreno, si ha lo sviluppo del micelio fungino tale da permettere al fungo di raggiungere le radici e iniziare la colonizzazione del tessuto vegetale. Quest'ultima avviene internamente sia invadendo gli spazi intercellulari, sia penetrando all'interno delle cellule stesse, preservando comunque il cilindro centrale e le cellule dell'apice radicale. La struttura della radice, di fatto, non è trasformata o modificata nella sua morfologia come avviene negli altri tipi di micorriza. Non evidenziando sintomi a livello radicale, l'unico modo per verificare la presenza dell'infezione è quella di decolorare i tessuti radicali con alcali prima di applicare una colorazione con il blu di tripiano, con lo scopo di colorare le pareti ifali del fungo. Unico sintomo visibile macroscopicamente è l'aumento di volume dell'apparato radicale che in alcuni casi può aumentare di 100 volte

In base alle specie di piante ospiti e ai funghi coinvolti si possono distinguere tre gruppi di endomicorriza: *ericoidi*, *arbuscolari*, *delle orchidee*. Le endomicorrize ericoidi interessano piante del genere *Ericales* (mirtillo, rododendro e erica), e i funghi che ne fanno parte sono per la maggior

parte Ascomiceti. La colonizzazione interessa l' 80% del tessuto radicale, con la formazione di avvolgimenti ifali chiamati "coils".

Nelle endomicorrizze delle orchidee la simbiosi risulta fondamentale nello sviluppo delle plantule e nella germinazione dei semi che, grazie alle sostanze nutritive fornite dai funghi simbiotici, possono sopperire alla totale mancanza di sostanze di riserva che li caratterizza.

2.4 - LE ENDOMICORRIZZE ARBUSCOLARI

Le endomicorrizze arbuscolari AM o VAM , *Vesicular Arbuscolar Mycorrhizal*, rappresentano, senza dubbio, il tipo più comune di micorrizze, interessando le principali colture agrarie erbacee e legnose a livello mondiale. Per quanto riguarda le piante coltivate si ritrovano nei cereali (grano, mais , orzo e riso), in ortaggi come il pomodoro e la patata, in colture industriali (tabacco e girasole) e nelle arboree (vite, pesco, melo, pero, olivo ecc..).

Hanno origine molto antica, infatti, ritrovamenti su radici di piante fossili dimostrano la loro presenza già dal periodo Devoniano, circa 400 milioni di anni fa. Alcuni autori hanno sviluppato teorie secondo le quali, i funghi micorrizici arbuscolari avrebbero avuto un ruolo fondamentale nella colonizzazione vegetale delle terre emerse.

Sono così definite perché, a differenza delle ecto, il fungo penetra all'interno delle cellule dell'ospite, e mancano di un mantello fungino esterno. Le spore, che si trovano nel terreno, germinano in presenza di radici ospiti per effetto degli essudati radicali. Si sviluppano sino a raggiungere la radice stessa e la colonizzano penetrando sia attraverso gli spazi intercellulari, sia direttamente nelle cellule. Il fungo si diffonde così attraverso le cellule corticali, senza invadere mai il cilindro centrale né le cellule dell'apice radicale. All'interno delle cellule le ife si diramano a formare delle strutture ramificate, gli *arbuscoli*, responsabili degli scambi nutrizionali tra i due simbiotici: la pianta cede i carboidrati eccedenti, prodotti attraverso la fotosintesi; il fungo a sua volta, cede i Sali minerali assorbiti dal suolo circostante. Gli arbuscoli hanno vita breve: dopo alcuni giorni infatti, degenerano. Un' altra struttura prodotta dalle ife fungine è la *vescicola*, rigonfiamento tondeggianti inter o intra cellulare, che rappresenta un organo di accumulo di granuli di grasso con funzione di

riserva. Le spore formate da questi funghi sono asessuali e si formano direttamente dalle ife vegetative. Il micelio di questi funghi, costituito da ife vegetative extraradicali di dimensioni che variano da 8 a 20 micrometri, può essere molto esteso, ed ha il ruolo fondamentale di esplorare la maggior quantità di terreno attorno alla radice in modo da aumentare l'efficienza assorbente della radice medesima.

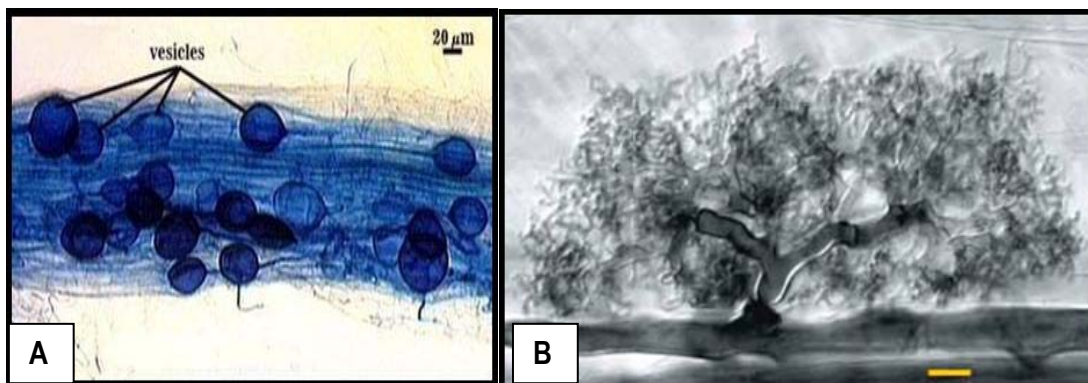


Fig. 2_ (A)Foto con il microscopio a scansione di *vescicole*, con la tipica forma tondeggiante. Foto con il microscopio a scansione di un *arbuscolo* formate dalle ife fungine.

Sono stati descritti due tipologie di infezione : il tipo *Arum* e il tipo *Paris* (Smith e Read 1997). Il tipo *Arum* è caratterizzato: da uno sviluppo ifale interno allo spazio apoplastico tra le cellule radicali della corteccia, da una crescita delle vescicole itra cellula e cellula e da lo sviluppo degli arbuscoli internamente alle cellule. Il tipo *Paris* invece, ha uno sviluppo ifale di tipo simplastico ovvero passando da una cellula all'altra. (Smith e Read 1997).

2.5 - EFFETTI DELLE MICORRIZE

La differenza più evidente tra una pianta non micorrizzata ed una micorrizzata è rappresentata dall' aumento di efficienza nell'assorbimento del P da parte della pianta in simbiosi con il fungo. Il fosforo, di per se, è un elemento poco mobile nella soluzione circolante, è quindi difficilmente assorbibile da parte delle radici le quali, una volta terminate le scorte presenti nella parte di terreno che le circondano, si trovano in deficit e ne riducono conseguentemente l'assorbimento. La presenza dei funghi simbiotici invece, permette alla pianta di utilizzare riserve maggiori di P in quanto il micelio extraradicale della micorriza aumenta notevolmente l'esplorazione del terreno. Altri studi hanno dimostrato invece che l'assorbimento del fosforo risulta essere legato alla concentrazione dell'elemento stesso nel terreno, dal tipo di pianta e dagli isolati fungini (Cooper e Tinker, 1978).

Oltre al P, altri elementi, seppur in minor misura, sono coinvolti nella traslocazione dal terreno alla pianta attraverso il fungo e sono: N, Zn, Ca, S (Cooper e Tinker 1978).

Grazie al micelio extraradicale la pianta non solo riesce ad aumentare l'efficienza di assorbimento dei minerali ma anche dell' acqua stessa. Questa caratteristica permette alle piante micorrizzate una maggior resistenza alla siccità.

Inoltre si attribuisce ai funghi micorrizici anche il ruolo di operare una redistribuzione dei composti carboniosi all'interno delle comunità vegetali, di aumentare , ove siano presenti, la biodiversità vegetale e di influenzare i rapporti di competizione fra le piante (Grime et al., 1987).

E' stato dimostrato che i funghi micorrizici aumentano il grado di penetrazione radicale e dell'aggregazione del suolo, con la conseguente diminuzione dell'erosione (Sutton e Sheppard, 1976).

L'importanza di tali scoperte, l'impulso sempre più forte al perfezionamento di tecniche agricole a basso impatto ambientale e l'accertata diminuzione dei funghi micorrizici sia negli ambienti agrari sia in quelli forestali, hanno spinto l' UE ad istituire una banca europea per la conservazione del germoplasma dei funghi micorrizici. La conservazione di tali funghi risulta di

fondamentale importanza per arrivare ad una corretta gestione del suolo e mantenere un alto livello della fertilità negli agrosistemi.

2.6 - LE MICORRIZE NATURALI DELL'OLIVO

Una ricerca condotta in Spagna meridionale (Andalusia) volta alla scoperta del grado di micorrizazione di cinque differenti colture tra cui l'olivo ha raggiunto importanti risultati in merito al suo status di pianta micorrizata naturalmente (Hayman e Barea, 1976). L'esperienza si è svolta prelevando del materiale (campioni di terra e radici) da cinque località differenti. Dopo aver preparato i campioni sono stati sistemati in piastrelle Petri ed osservati al microscopio a scansione per individuare le presenze di spore. L'incidenza è stata stimata contando i frammenti che presentavano l'infezione micorrizica, mentre l'intensità è stata calcolata in due modi differenti: misurando la lunghezza delle radici che mostravano infezione per rapportarla ad altre osservazioni fatte in campo su radici estranee alla presenza del fungo (Haymann 1975), oppure misurando il rapporto tra la lunghezza dell'infezione e la larghezza approssimata della corteccia radicale per dare una stima della % infetta.

In base ai risultati ottenuti è stato possibile affermare che nei terreni spagnoli sia diffusa una micorrizazione naturale e spontanea delle piante d'olivo. Valutando parametri come la frequenza di micorrizazione è stato possibile evidenziare l'altissima % di materiale infetto e come le piante adulte rispetto a quelle giovani siano più stabili e uniformi come frequenza (97,5 % ca.) E' quindi possibile affermare che l'olivo presenta associazioni micorriziche e, nello specifico, micorrize di tipo AM dei tipi Arum e Paris.

2.7 - L'USO DELLE MICORRIZE NELL'ARBORICOLTURA MODERNA

Negli ultimi anni, gli effetti dei funghi micorrizici arbuscolari (MA) sull'accrescimento di molte piante arboree hanno richiamato notevole interesse nei ricercatori e sono state acquisite approfondite conoscenze sui multiformi benefici derivanti dalla simbiosi pianta fungo. In bibliografia è possibile trovare centinaia di sperimentazioni , svolte a partire dagli anni sessanta, trattanti tali argomenti con combinazioni tipo di fungo e specie di

pianta sempre diverse. Pesco, Actinidia, Albicocco, Pero, Melo sono alcune delle decine di specie arboree da frutto che in questi anni si sono alternate come partner ideali di simbiosi con funghi micorrizici. E' naturale che le nuove tecniche miglioratrici inizino la sperimentazione su quelle colture a più alto reddito. I risultati ottenuti sono sempre stati incoraggianti ed hanno permesso in breve tempo la stesura di vari protocolli, a seconda delle specie e del fungo, per l'introduzione di tali tecniche già a partire dal vivaio. Questa riscoperta, peraltro naturale, dei vantaggi nelle simbiosi pianta - fungo non ha solo modificato la sfera professionale del comparto agricolo-vivaistico ma è entrata prepotentemente in pochi anni anche nel settore hobbistico del vivaismo, rappresentando la fortuna di molte aziende produttrici che hanno subito introdotto nel mercato nuovi prodotti a base di miscugli di inoculi micorrizici pronti per l'uso.

Per quanto concerne invece l'olivo la ricerca ancora frammentaria e di recente avviamento, pur constatando l'esistenza di lavori in bibliografia già a partire dagli anni settanta, come già accennato nel paragrafo precedente. Ricordiamo soprattutto i lavori di Roland, Fajardo e Barrea sulle simbiosi naturali dell'olivo del 1985 fino ad arrivare alle recenti pubblicazioni (Di Marco 1999) sull'influenza positiva nella radicazione di talee d'olivo in radicazione delle micorrize.

Sembra dunque doveroso approfondire maggiormente tali tecniche per migliorare una coltura che, comunque, è simbolo del nostro mar Mediterraneo.

CAPITOLO 3.

3.1 - IL VIVAISMO OLIVICOLO IN ITALIA E NEI PAESI MEDITERRANEI

In Italia, secondo un recente lavoro " L'olivicoltura italiana tra evoluzione ed estinzione", redatta da P. Deidda, P. Fiorino e N. Lombardo, l'olivo è diffuso su circa 1.100.000 ha, ed esistono quattro principali poli di propagazione: Puglia, Calabria, Sicilia e Toscana (Pescia). Inoltre, il sistema di propagazione per talea è oggi maggioritario in Toscana e Calabria (70% ca.), in Sicilia si sta avvicinando al 50 % del materiale prodotto mentre è praticamente insignificante nella sola Puglia, dove prevale in modo quasi esclusivo la produzione vivaistica di piante innestate. La produzione totale annua di piantine d'olivo oscilla sui 6.000.000 milioni di piante.

Quanto agli altri paesi olivicoli, in Spagna, prima al mondo con 2.400.000 ha a oliveto, ci sono metodi di propagazione dell'olivo di tipo aziendale e di tipo industriale e che l'innesto su semenzali in vivaio è un metodo in progressivo disuso (Rallo L., 2004). Intorno agli anni '80 si è sviluppata una nuova attività vivaistica basata sulla propagazione per talea erbacea oppure semi-legnosa con nebulizzazione, regolatori di crescita e riscaldamento basale, che sta soppiantando tutti gli altri modi di produrre piante d'olivo. Il metodo ha assunto dimensioni industriali e oggi rappresenta quello standard utilizzato da una prospera industria vivaistica, localizzata in Andalusia e Catalogna. La produzione spagnola di piante autoradicate ha superato i 10 milioni ed è destinata per oltre la metà al mercato interno per la realizzazione di nuovi oliveti e per rimpiazzare quelli ormai obsoleti.

La Grecia, con una diffusione della coltura di circa 740.000 ha, ha invece un sistema di propagazione più simile a quello italiano. Infatti, la produzione di piantine si divide per circa un 50% per talea e il restante utilizzando l'innesto.

In Turchia, dove l'olivo è coltura in grande espansione, con una superficie di 660.000 ha (H. Zafer Can e M.Isfendiyaroglu) pur mantenendo l'innesto come tecnica tradizionale, negli ultimi decenni la nuova tecnica di propagazione per talea ha preso a diffondersi in vivaio, grazie anche

all'aumento della domanda , fino a raggiungere una produzione di 15 milioni di piante nel 2006.

3.2 - IL VIVAISMO PESCIATINO

La città di Pescia rappresenta il polo vivaistico per eccellenza nella produzione di piante d'olivo da vivaio, con un gran numero di imprese quasi completamente dedicate alla propagazione di questa specie. Nel territorio comunale sono infatti presenti più di cento vivai specializzati nella produzione quasi esclusiva di piantine di olivo.

La produzione di piante con età compresa tra i 12 e i 24 mesi, è di circa 3.000.000 di unità per anno, che rappresenta quasi il 50 % di quella nazionale, destinate non solo al mercato interno, ma anche al mercato internazionale con un interessamento di circa il 30% della produzione totale.

Negli ultimi anni l'intero comparto ha subito una notevole flessione, diminuendo quasi del 15 % la produzione totale; i vivaisti pesciatini si collocano in una posizione centrale nel rilancio di questa attività attraverso la sperimentazione di nuove tecniche capaci di migliorare la qualità del prodotto finale.

3.3 – S.P.O. SOCIETÀ PESCIATINA D'ORTICOLTURA

La SPO, società pesciatina d'orticoltura, rappresenta nel territorio una delle più grandi e rinomate aziende vivaistiche specializzate nella produzione di piante d'olivo da destinare sia alla realizzazione di nuovi impianti produttivi sia alla creazione di spazi verdi e giardini (olivo intesa come pianta ornamentale).

L'azienda nel suo complesso è divisa in due poli aziendali, situati all'interno del comune di Pescia. Il primo in via Marconi, a 200 metri dalla stazione ferroviaria, è il centro aziendale: qui sono presenti l'ufficio amministrativo ed alcune serre, destinate soprattutto alla produzione di piante d'olivo per innesto. Nell' altro polo aziendale, distante 1 km dal primo, si produce soprattutto piante per talea. Sono presenti 3 serre climatizzate per la

radicazione del materiale vegetali e serre tunnel per il successivo sviluppo e crescita.

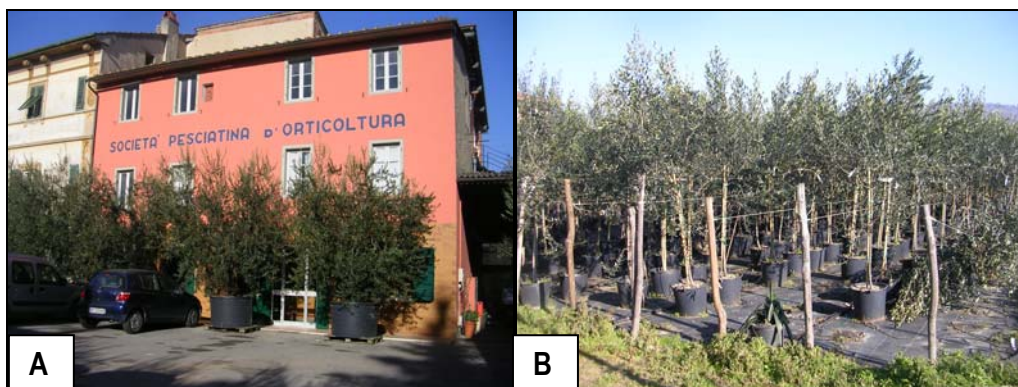


Fig. 3_ (A) Il centro aziendale del vivaio S.P.O. di Pescia. (B) Zona di allevamento di piante d'olivo di 5 anni d'età, del vivaio.

STORIA DELL' AZIENDA

La Società Pesciatina D'Orticoltura SPO fu costituita nel 1934 dal Cav. Renato Del Ministro. L'azienda inizialmente produceva e commercializzava piante d'olivo e fiori recisi, affiancando a questi viti e fruttiferi in modo marginale. Nel trascorrere degli anni, la SPO ha abbandonato gli altri prodotti per specializzarsi nella coltura degli olivi, arrivando sino ad oggi ad essere una delle poche aziende a monocoltura olivicola. Questa specializzazione ha fatto sì che l'azienda diventasse leader nel settore: sia per quanto riguarda la quantità di piante prodotte, che per la selezione di cultivar maggiormente richieste e diffuse in ogni regione olivicola nazionale e nelle zone olivicole mondiali. Infatti l'azienda, nel corso degli anni, ha fornito olivi in Europa, Unione Sovietica (Caucaso), nei paesi del Medio Oriente e del bacino del Mediterraneo. Nel 1959 è stata una delle prime ditte europee ad affiancare alla forma tradizionale di riproduzione, l'innesto, vanto del vivaismo pesciatino, quella della moltiplicazione per talea.

3.4 - SISTEMA PRODUTTIVO AZIENDALE

La SPO produce piante d'olivo seguendo due diverse tecniche: l'auto-radicazione delle talee semilegnose e l'innesto su semenzale d'olivo, tecniche comunque definite anche di propagazione agamica.

La propagazione agamica è la riproduzione di una pianta completa a partire da una struttura vegetativa, più o meno differenziata, di un esemplare dalle caratteristiche predefinite e del quale si desidera una duplicazione perfetta per la perpetuazione delle caratteristiche agronomiche; questa operazione si basa sulla "totipotenza" delle cellule vegetali, ognuna delle quale contiene l'informazione genetica necessaria per rigenerare l'intera pianta.

Questa duplicazione (o moltiplicazione) del genotipo originale si definisce "clonazione" e "clone" l'insieme delle piante originate a partire da un unico esemplare (capostipite).

La moltiplicazione può essere attuata attraverso la formazione di radici avventizie su rami e germogli separati dalla pianta madre o stimolati a radicare ancora attaccati alla pianta-madre attraverso l'ezionamento (margotta); può anche essere ottenuta attraverso l'unione di una gemma o parte di ramo su un soggetto in grado di garantirne la crescita (innesto). Inoltre una singola gemma può essere utilizzata per rigenerare piante complete (micropropagazione) o cellule di foglia o di peduncolo possono ricreare il ciclo embrionale ma con genotipi uguali fra loro e tutti le caratteristiche della pianta di partenza (embriogenesi somatica).

3.5 – PROPAGAZIONE PER TALEA

La propagazione dell'olivo per talea semilegnosa è sicuramente il metodo di moltiplicazione più diffuso nel settore del vivaismo olivicolo professionale. La produzione di nuove piantine con questo sistema di propagazione rappresenta circa il 50% della produzione aziendale totale.

Questa tecnica richiede operazioni meno complicate di quelle necessarie per produrre piante tramite innesto, però è importante conoscere ed seguire con attenzione tutte le fasi della filiera. Il punto debole è rappresentato dal fatto che purtroppo non tutte le cultivar si prestano per questo metodo di propagazione; infatti molte varietà sono incapaci di radicare o emettono radici ma in quantità insufficiente per costituire un nuovo ed efficiente apparato radicale.

Il ciclo di produzione inizia con il prelievo dalle piante madri del materiale vegetale di propagazione, costituito da rami di un anno di età. Dal materiale

prelevato, vengono poi preparate le talee, costituite da porzioni ramo di 4 – 5 nodi di lunghezza. La talea viene così preparata:

1. Si effettua un taglio alla base della talea (poco sotto un nodo) e si defogliano i due nodi sovrastanti lasciando i rimanenti due o tre palchi provvisti di foglie
2. Per la salvaguardia da patogeni, prima e durante la radicazione, si eseguono trattamenti antiparassitari
3. La porzione basale della talea viene poi immersa per pochi secondi in una soluzione idroalcolica contenente un fitostimolatore della radicazione. Normalmente viene utilizzato l'acido indolbutirrico IBA.

3.5.1 - Trattamenti alle talee

I trattamenti applicati alle talee per migliorarne la radicazione sono di due tipi:

1. ad azione rizogena, ormai pressoché esclusivamente con fitoregolatori, da soli od accoppiati ad altri composti chimici o operazioni fisiche atti a stimolare la radicazione
2. per la salvaguardia da patogeni e per prevenire l'infezione e la diffusione della rogna (*Pseudomonas savastanoi*) e del cicloconio (*Spilocea oleagina*).

I trattamenti con sostanze rizogene, ormoni e stimolatori di crescita, sono indispensabili per aumentare la percentuale di talee radicate, accelerare la formazione dei primordi radicali ed aumentare il numero di radici per talea. Possono essere utilizzati diversi regolatori del gruppo delle auxine (acidoindolacetico o IAA, acido indolbutirrico o IBA, acido naftalenacetico o NAA, acido 2-4 diclorofenossiacetico o 2-4 D) da soli o in combinazione tra loro. Poiché le auxine sono insolubili in acqua, sono stati sperimentati diversi metodi di somministrazione variando la concentrazione di auxine nella soluzione idroalcolica. Comunque, l'uso dell'acido indolbutirrico (IBA) alla concentrazione di 2-4 g/l (2000-4000 ppm) in soluzione idroalcolica (30-40 % di alcool) è pressoché generalizzato nella pratica; di norma la soluzione è preparata al momento dell'uso, sciogliendo la sostanza nella frazione etilica ed aggiungendo successivamente l'acqua per portarla alla concentrazione voluta.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

Le talee, così preparate, vengono collocate nei bancali di radicazione. Sono dei cassoni in cemento della profondità di 25 cm, il cui fondo è termocondizionato da una serpentina dove scorre acqua calda: questo serve a mantenere costante la temperatura alla base del substrato (19-20 °C). I bancali di radicazione vengono riempiti con un substrato inerte costituito da perlite per arrivare ad uno spessore totale di 15 cm. La perlite o agriperlite è di colore bianco grigiastro ed è prodotta da rocce vulcaniche silicee originate dalle colate laviche, la " riolite ". Il materiale grezzo, frantumato e fatto passare attraverso i crivelli (grandi setacci con funzionamento meccanico) viene portato ad una temperatura di 700 °C (temperatura alla quale l'acqua contenuta nel minerale evapora espandendo le particelle di perlite in piccoli grumi spugnosi). La perlite in commercio si trova con granulazione da 3 a 6 mm di diametro, è molto leggera ha una porosità elevata (80 % in volume) con una capacità di ritenuta del 34 % in volume: ottime caratteristiche per un substrato per la radicazione di talee.

Una volta riempito il bancale di radicazione con la perlite, quest' ultima viene bagnata e accuratamente amalgamata per poi essere distesa e livellata con attenzione. Le talee vengono poi collocate nel bancale inserendo la parte basale per 5-6 cm; in ogni mq di bancale vengono piantate circa 1500 talee

Le foglie delle talee devono essere frequentemente irrorate con acqua finemente nebulizzata (MIST) per evitare la disidratazione. Il Mist prevede una rete di distribuzione con ugelli a deflessione che funzionano a 4 atm, con acqua a bassa durezza e con portate di 10 -15 l/h; si origina una sottile pioggia di breve durata (5 -15 secondi), alternata ad intervalli di sosta di durata variabile a seconda delle condizioni climatiche. Praticamente un velo sottile di acqua ricopre permanentemente le foglie delle talee in radicazione e questo porta ad una drastica riduzione di traspirazione delle foglie ed anche ad un leggero abbassamento della temperatura dell'ambiente di radicazione. Positivo è anche l'effetto di garantire temperature più costanti durante l'intero arco della giornata. Norma generale è comunque quella che la temperatura dell'aria debba essere inferiore a quella del substrato per impedire lo sviluppo della parte aerea prima ancora dell'apparato radicale.

Le talee permangono nei bancali di radicazione per 70-80 giorni; questo periodo rappresenta la fase più delicata di tutto il processo. Le ottimali

condizioni ambientali all'interno delle serre di propagazione sono alla base del successo del ciclo di produzione; scompensi o squilibri dovuti ad eccessi o carenze idriche possono compromettere totalmente la radicazione delle talee.

Una volta ottenute le barbatelle (talee radicate), queste vengono estirpate dal substrato con estrema delicatezza, per non danneggiare le radichette neo-formate, e trapiantate in vasetti contenenti un idoneo substrato. Quest'ultimo è costituito da un miscuglio di più materiali con l'obiettivo di migliorarne le caratteristiche chimico fisiche, permettendo un migliore sviluppo dell'apparato radicale. Gli elementi che costituiscono il substrato usato sono:

1. Torba lituana. E' una torba *bionda* con pH acido (3,5 – 4 in acqua) e sono formate da residui di muschi, canne o *Carex*. Sono caratterizzate da: una buona stabilità strutturale, una porosità dell'85% che permette un'ottima areazione ed una elevatissima capacità di assorbimento ritenzione idrica.
2. Carbonato di calcio. Poiché il pH della torba è acido, è necessario ricorrere all'aggiunta di una base per aumentarlo (fino a valori di pH 5,5). Generalmente si aggiunge 2,5 kg di CaCO_3 per metro cubo di torba.
3. Leonardite. È il fossile a più alto contenuto di sostanza organica umificata; può presentare sino all'80-85% di acidi umici naturali. Materiale organico di origine vegetale trasformatosi lentamente in ambiente anaerobico. E' il materiale organico con il più alto livello di umificazione presente in natura.
4. Pomice. Materiale di origine vulcanica molto leggero e poroso, che per le sue caratteristiche aumenta la porosità del substrato e alleggerisce il vaso.

Nel pieno rispetto della qualità vengono trapiantate solo le barbatelle che hanno un apparato radicale ben formato e sviluppato. La selezione in vivaio è molto restrittiva ed il sistema di controllo predisposto ha un rigido schema di analisi che prevede l'osservazione di: numero, lunghezza, angolazione e conformazione delle radici. Solo le ottime talee radicate, con non meno di 4

radici, vengono trapiantate in vaso ed iniziano l'iter di crescita che porta la pianta finita da acquistare.

3.5.2 - Basi anatomiche della radicazione

Le radici avventizie sui rami di un anno si originano nella zona immediatamente esterna alla cerchia cambiale e si manifestano come meristemi già organizzati mentre penetrano tra i tessuti corticali per uscire, in genere, in prossimità del tagli; il processo di sviluppo è rapido ed il primordio radicale compare sempre all'osservazione come complesso organizzato per cui non è definito se trae origine da una o più cellule.

Nello studio morfo-anatomico delle radici avventizie, forse per spiegare differenze di risposta tra cultivar ed epoche, si era inizialmente supposto (Ciampi e Gellini, 1958) che preesistenti strutture del ramo ed in particolare la guaina sclerenchimatica immersa nel floema, potessero rappresentare un ostacolo fisico per il regolare sviluppo delle radici; a conclusioni diverse erano pervenuti altri ricercatori ed ormai si ammette che le caratteristiche della guaina sclerenchimatica sono influenti per l'ontogenesi e lo sviluppo dei primordi radicali.

Studi condotti con materiale genetico omogeneo ma allevato in diverse condizioni, hanno chiarito che la capacità rizogena non è collegata alla conformazione anatomica, né al grado di differenziazione degli sclereidi, né alla continuità dell'anello; semmai le condizioni ambientali che incidono sulla capacità di radicazione sono quelle che determinano in modo significativo differenze su parti del ramo in crescita

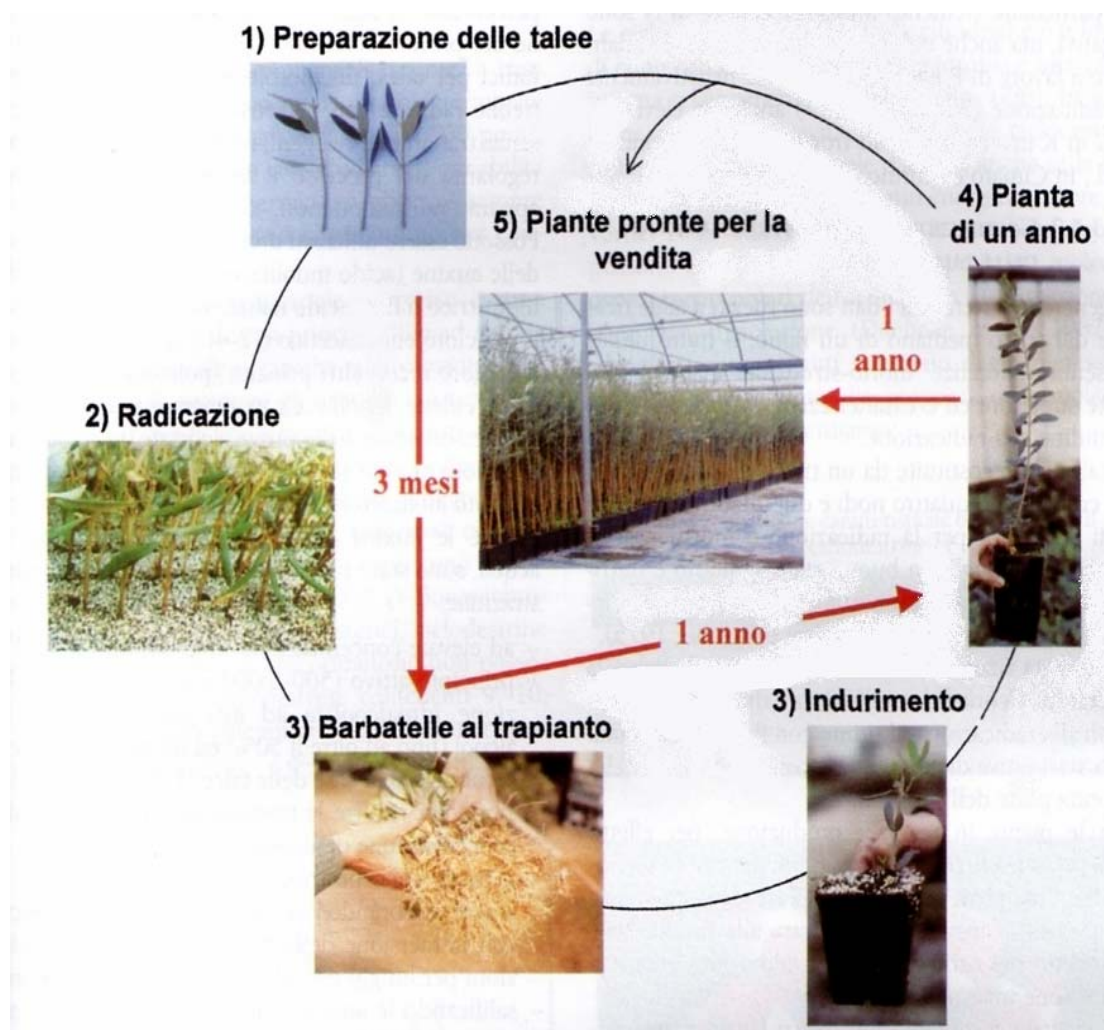


Fig . 4_ Schema del ciclo di moltiplicazione, in vivaio, di piante di ulivo per talea con la tecnica della nebulizzazione.

3.6 - LA PROPAGAZIONE DELL'OLIVO PER INNESTO

La moltiplicazione degli ulivi per innesto è una tecnica vivaistica tradizionale, punto fermo dell'olivicoltura pesciatina la cui filiera di produzione prevede fasi operative altamente specializzate. Questa tecnica ha rappresentato il metodo esclusivo di propagazione dell'ulivo in vivaio fino agli anni 60-70 del secolo scorso, fino a quando cioè non sono state messe a punto adatte tecnologie (regolatori di crescita, nebulizzazione e riscaldamento basale) per indurre radicazione da talee di germoglio oppure semilegnose (Cimato, 1979). E' noto che l'innesto si utilizza per propagare cultivar e cloni di specie legnose da frutto non altrimenti propagabili; esso

torna però utile anche per coltivare cloni propagabili per talea, per valorizzare particolari portinnesti, quali ad esempio, la resistenza a organismi nocivi e/o l'adattabilità a condizioni pedoclimatiche particolari e/o controllo dello sviluppo dell'albero (Baldini 1972).

Nel caso dell'olivo, nonostante le numerose specie proposte nel secolo scorso come candidati portinnesti (Cimato e Fiorino 1985), continuano ad essere sempre e soltanto due le opzioni possibili, entrambe appartenenti al genere *Olea*:

1. *Olea europae* L. var. *oleaster*, detto anche oleastro o selvatico, ottenuto dalla germinazione di semi dell'olivo selvatico che popola la macchia mediterranea
2. *Olea europae* L. var. *sativa* detto anche olivastro o franco, ottenuto dalla germinazione di semi di qualsiasi cultivar di olivo.

Comunque, per quanto riguarda la scelta delle varietà di olivo dalle quali prelevare i noccioli, l'unica indicazione è tratta dall'esperienza del vivaio. Utilizzando particolari snocciolatori, i noccioli vengono separati dalla polpa delle olive per poi essere accuratamente lavati e ripuliti dai residui oleosi (con trattamento in soda caustica all' 1%); asciugati con cura, vengono conservati in sacchi di juta o contenitori conservati in locali freschi ed asciutti od altrimenti in frigoriferi con temperatura intorno ai 4°C.

A fine luglio, circa tre settimane prima la semina, i noccioli vengono sottoposti ad un trattamento idratante (2 giorni) che ne favorisce la germinazione in semenzaio e permette l'eliminazione dei "semi vani" che galleggiando vengono facilmente asportati.

La semina dei noccioli avviene a fine agosto in appositi semenzai opportunamente riempiti di un substrato tendenzialmente sabbioso.

Per la semina si utilizzano 1,5-2 Kg di seme per metro quadrato di semenzaio in rapporto alle dimensioni del nocciolo. I noccioli vengono distribuiti in maniera omogenea, sulla superficie del letto di semina e ricoperti con uno strato di sabbia e terra. Aspetto fondamentale per permettere un adeguato sviluppo del fittone è la profondità del letto germinazione che migliorerà la qualità dell'apparato radicale della futura pianta

Il letto di semina viene poi oscurato con teli di feltro appoggiati su appositi telai metallici. Le cure al semenzaio dopo la semina sono semplici ma costanti e non possono essere trascurate. Le plantule inizieranno a germinare a fine settembre-inizio ottobre arrivando a fine dicembre con una germinazione media del 75-80%. Il periodo di germinazione comunque si conclude a fine gennaio.



Fig. 5_ (A) Bancali per la germinazione dei semenzali. (B) Particolare della germinazione di un nocciolo di olivo utilizzato per i semenzali.

Nell’appezzamento destinato a nestaio, dove cioè si faranno crescere i semenzai, si procede a preparare opportunamente il terreno. Le operazioni di trapianto dei semenzali avranno luogo in primavera nei mesi di aprile-maggio; le piantine provviste di: 6-8 foglie disposte in tre o quattro palchi, vengono estirpate con delicatezza dal semenzaio e preparate per la futura piantagione del nestaio. Il metodo di piantagione è praticato disponendo le piante a quadrato ad una distanza di 8-10 cm una dall’altra, costituendo pertanto, file regolari ed ottenendo una densità di piantagione finale di circa 130 piante per metro quadrato. Una volta trapiantati, i semenzali vengono sottoposti ad adeguate cure (forzatura) affinché raggiungano le dimensioni idonee per l’innesto nell’aprile dell’anno successivo.

3.6.1 - Innesto a corona (“a penna”)

La tecnica di produzione dei semenzali consente di avere soggetti innestabili dopo un anno dal trapianto, quando il diametro alla base del franco è di circa 8-10 mm; l’innesto viene quindi effettuato tra 5 e 10 cm dal suolo secondo la metodologia dell’innesto a corona con unica marza. E’ una

tecnica relativamente antica, ma una prima e precisa descrizione del metodo si deve a Morettini (1972). Le operazioni iniziano quando la corteccia dei semenzali si distacca con facilità dal fusto ma prima della ripresa vegetativa delle piante adulte.

Le piantine, da un anno nel nestoio, sono recise all'altezza prestabilita e dal bordo del taglio, verso il basso, si effettua nella corteccia una incisione longitudinale di 15-20 mm che permette di evitare la rottura della corteccia sotto la pressione della marza una volta inserita tra legno e cribro. L'incisione deve essere precisa e portata fino al cilindro legnoso centrale per permettere un facile allargamento della corteccia che deve ospitare la base della marza.

Questa è ricavata da porzioni di ramo di un anno prelevate da piante fruttificanti, scegliendo i rami a frutto lunghi, posti alla periferia della chioma; sono preferiti quelli del diametro medio di 5-6 mm. Da ogni germoglio si possono ricavare diverse marze (da 2 a 4) a seconda delle cultivar. I germogli troppo deboli vengono evitati poiché da essi si ottengono piantine di più modesta crescita al primo anno.

La marza comprende almeno due nodi, dei quali quello basale è defogliato mentre nel nodo apicale si lascia una parte (da $\frac{1}{3}$ a $\frac{1}{4}$) delle lamine fogliari; all'altezza del nodo basale si opera un taglio, obliquo verso il basso,, di alcuni millimetri, sia per ridurre il diametro della marza (per non lacerare la corteccia del soggetto) che per aumentare la superficie di contatto tra i due bionti. Questo taglio dà alla marza la caratteristica forma "a penna" o a "becco di clarino".

Appena preparata, la marza viene inserita verticalmente tra il legno e la corteccia del portinnesto, con la parte esposta del taglio obliquo rivolta verso l'interno e spinta fino ad inserirsi nella corteccia senza lasciare alcuna ferita esposta.

L'innesto viene successivamente legato per prevenire il distacco e le ferite del soggetto e della marza vengono ricoperte di mastice per impedire il disseccamento dei tessuti prima della cicatrizzazione. L'attecchimento dell'innesto è elevato e la ripresa vegetativa buona; i processi di cicatrizzazione sono rapidi poiché sono ampie le zone di contatto tra i tessuti cambiali attivi.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

E' entrata nella pratica la conservazione per alcuni giorni in celle frigorifere (4-5 gradi) dei rami completi di foglie avvolti in panni umidi o in magazzini ad elevatissima umidità relativa; questa pratica consente di procedere in modo più celere ed economico alla raccolta del materiale da innestare, ma secondo i pratici migliora anche l'attecchimento.

Con l'innesto a corona la percentuale di attecchimento è prossima al 100%; l'operazione è di facile esecuzione e, se si rinuncia alla velocità di esecuzione, può essere effettuata anche da amatori.

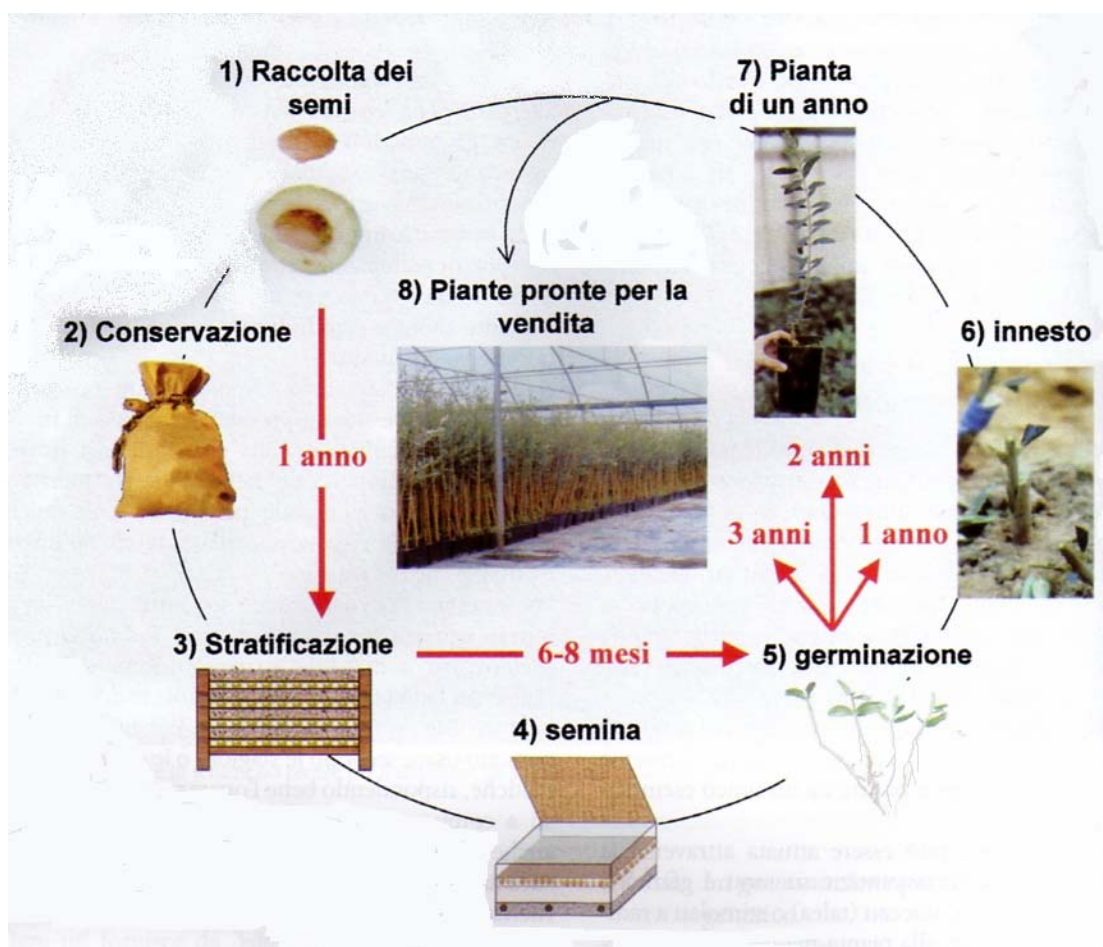


Fig . 6_ Schema del ciclo di produzione , in vivaio, di piantoni di olivo tramite la tecnica dell'innesto; nello schema sono indicati i tempi necessari per le varie fasi.

Nel mese di novembre le piante che hanno raggiunto una altezza di 60-80 cm vengono tolte dal nestaio e trapiantate in vasi di plastica da 3,5 litri riempiti con apposito substrato, lo stesso visto in precedenza per le piantine propagate per talea. Da qui lo sviluppo delle piantine continuerà in vaso per altri nove mesi; giunti a settembre-ottobre le piante saranno pronte per essere vendute.

3.6.2 - Attecchimento dell'innesto e affinità

Sebbene pochi studi siano stati applicati all'olivo, si ritiene che i processi di attecchimento seguano le regole generali delle specie legnose. La sequenza della saldatura può essere schematizzata come segue:

1. Nei tessuti "feriti" dei due bionti inizia un' intensa attività di proliferazione cellulare che da luogo ad un parenchima che chiude ogni lacuna e ristabilisce una continuità tra i tessuti dei due bionti; le condizioni ottimali di temperatura e di umidità sono essenziali per il successo di questa fase. Questa attività non sembra esclusiva delle parti esposte del cambio, ma ha luogo anche nei tessuti sottocorticali e da uno xilema solo parzialmente differenziato, assomigliando ad una cicatrizzazione da ferita.
2. in ambedue i bionti, specifiche cellule adiacenti a zone esposte del cambio ed allineate con esso, dedifferenziano fino a divenire vere e proprie cellule cambiali; questo fenomeno avanza nel tessuto parenchimatico di nuova formazione e, se le linee cambiali sono allineate, i due cambi finiscono con il congiungersi, con "l'attecchimento" dell'innesto.
3. queste cellule cambiali iniziano a produrre i tessuti vascolari, ricreando la struttura del fusto che garantisce la continuità tra la marza della cultivar e l'apparato radicale del "franco".

In letteratura il meccanismo di saldatura è poco descritto (Fontanazza e Rugini, 1983) e non sono segnalate disaffinità di innesto di cultivar su franco. Incompatibili risultano invece gli innesti su generi e specie vicine botanicamente all'olivo quali il frassino o l'orniello.

3.6.3 - Cure del materiale vegetale dopo l'innesto

Dopo l'innesto le piantine vengono irrigate concimate e mantenute libere da erbe infestanti.

Nell'innesto "a penna" di solito si ha , in 2-3 settimane, la formazione di due germogli dalle gemme (opposte) dal nodo superiore; quando la lunghezza dei germogli arriva intorno ai 5 cm, si asporta il più debole e la pianta è allevata su un unico asse verticale; la ripresa e la crescita sono

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

rapide ed alla fine di un ciclo di crescita le piantine possono arrivare da 60 a 90 cm e, con qualche cura, possono essere anche messe a dimora definitivamente.

Di norma, tuttavia, dopo il primo anno di crescita in "nestaio", le piantine di un anno (dall'innesto) possono essere trasferite:

- in "piantonaio" (zona del vivaio che ospita le piante di oltre un anno per terminare la crescita commerciale) ove sono poste alla distanza di 40 x 100 cm; in piantonaio possono permanere per uno o talora per due anni per la produzione di piante particolarmente sviluppate e impalcate; l'espianto per commercializzazione viene effettuato con pane di terra mantenuto intero e protetto da un involucro di paglia. Ormai questa particolare fase è rimasta solo nelle zone ad olivicoltura tradizionale.
- In contenitore, utilizzando vasi 3,5-4 litri, con substrato artificiale; la nutrizione minerale è affidata a concimi a rilascio controllato od all'uso della fertirrigazione.

Dopo il trapianto si inizia la preparazione della chioma del piantone (pianta innestata o autoradicata che, in vivaio ha superato l'anno d'età): il fusto principale è accuratamente liberato da ramificazioni laterali e la cima mantenuta eretta con un tutore; eventuali ricacci laterali sono lasciati crescere alcuni centimetri e poi cimati mantenendo un apparato fogliare che deve contribuire all'ingrossamento del fusto.

Piante di età maggiore possono essere allevate impalcate, di norma mantenendo la freccia centrale (che sarà asportata se il cliente opta per il "vaso policonico"), mantenendo nel terzo apicale della pianta, ad oltre un metro dal suolo, alcune ramificazioni laterali.

Ordinariamente si mettono in commercio piantine di due anni per la parte epigea e tre anni (lunghezza del ciclo produttivo) per la parte ipogea nel caso di piante provenienti da innesto, con un' altezza di oltre 140 cm.

3.6.4 - Cantiere di lavoro e materiale per l'innesto

Le operazioni d'innesto si effettuano con operatori specializzati e la squadra per l'innesto in campo è composta da un innestino (persona specializzata per l'esecuzione dell'innesto) assistito da due unità che tagliano i semenzali prima dell'innesto e legano e pongono il mastice sugli innesti effettuati.

Nel caso in cui il semenzale sia trapiantato subito in contenitore, questo è posto in bancali di circa un metro di larghezza, ed il semenzale viene lasciato crescere per un anno, come nel caso del nestajo; il cantiere per l'esecuzione degli innesti, per ragioni di manualità, è in genere composto da due innestini che procedono sui due lati lunghi del bancale eseguendo tutte le operazioni.

Per le operazioni sono necessari due tipi di coltello sempre perfettamente affilati, uno a lama smussata che serve per gli innesti a corona od a "T", l'altro a lama a punta ricurva, più robusto, da utilizzare negli innesti ad intarsio.

Indispensabili sono i mastici da utilizzare per impermeabilizzare gli innesti; ne esistono di diverse formulazioni, ad alto o a basso punto di fusione, talora con l'aggiunta di sostanze disinfettanti; per l'olivo si utilizzano prevalentemente i mastici a freddo (che si sciolgono a temperatura relativamente bassa) composti da una miscela di resina, pece e cera o, in mancanza d'altro, anche semplice cera d'api sciolta in un secchio di acqua calda poiché la necessità di impermeabilizzare in oliva solo breve durata.

Per legare i diversi tipi d'innesto si può scegliere tra un materiale vegetale, la rafia, ormai in disuso poiché deve essere recisa dopo l'attecchimento dell'innesto, o bande di gomma o materiale sintetico, alte circa 1 cm, che hanno il vantaggio di risultare di breve persistenza e risparmiano l'operazione del taglio.

3.6.5 - Standard produttivi del vivaio

L'azienda S.P.O offre, come la maggioranza dei vivai olivicoli peschiatini, una vasta gamma di piante d'olivo sia per quanto concerne le varietà sia per le caratteristiche intrinseche della pianta stessa. Sono quindi in produzione:

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

1. OLIVI DI 1 ANNO DI ETA'. Contenuti in vasetti di cm 10x10x17 e prodotti sia per autoradicazione che per innesto, vengono venduti quando hanno raggiunto una dimensione minima di altezza di 15-30 cm. Sono le piante più economiche e necessitano di maggiori cure colturali in campo dopo il trapianto. Dimensioni maggiori delle piante fanno variare la classe di appartenenza che distingue qualità e costo: Classe 1 (altezza cm 60-80) e Classe 2 (altezza cm 30-60).
2. OLIVI DI 2 ANNI DI ETA'. Piante mantenute in contenitore più a lungo arrivano alla commercializzazione in vasi di dimensione 15x15x20 cm. Come le piante di un anno, sia radicate che innestate, possono essere distinte in due classi in base all'altezza dell'asse centrale: Classe 1 (altezza 120 cm ed oltre) e Classe 2 (altezza tra i 100 cm e i 120 cm).
3. OLIVI DI 3 ANNI DI ETA'. Innestati ed autoradicati vengono coltivati in vaso della dimensione di cm 18x18x23. Le piante sono adatte per impianti subito produttivi e per tutti i casi in cui occorra dare immediato impatto visivo.

CAPITOLO 4.

SCOPO DELLA RICERCA

L'insieme delle considerazioni fatte nei capitoli precedenti sulla necessità di migliorare e modernizzare il comparto vivaistico olivicolo italiano, sulla qualità del materiale vivaistico e sulle caratteristiche miglioratrici delle micorrize in natura hanno portato all' avvio di un programma di collaborazione fra la Sezione di Coltivazioni Arboree del Dipartimento di Coltivazioni delle Specie Legnose " G. Scaramuzzi" dell' Università di Pisa e l'azienda vivaistica Società Pesciatina di Olivicoltura , S.P.O, con sede a Pescia.

Lo scopo di tale collaborazione, che ormai dura da un anno, è quello di verificare la possibilità di utilizzare i vantaggi offerte da una simbiosi mutualistica con funghi micorrizici di tipo A.M direttamente in vivaio durante la produzione di piante di olivo. Obiettivo del progetto è di valutare:

- gli effetti della micorizzazione con funghi arbuscolari su piante di due cultivar di olivo, Frantoio e Leccino
- le problematiche derivanti dalla loro applicazione a livello aziendale, nell' ottica di produrre piante di più elevata qualità, provviste di un maggiore potenziale di accrescimento e capacità produttiva e capaci quindi di sopportare meglio gli stress provocati dal trapianto o da fattori biotici o abiotici.

L'introduzione della micorizzazione a livello vivaistico pone ovviamente alcuni problemi di natura tecnica, che devono essere adeguatamente affrontati. La selezione di miscele di funghi micorrizici adeguati ed efficienti e quindi la riproduzione di inoculo a costi vantaggiosi, l'impiego di substrati idonei e la riorganizzazione della tecnica colturale costituiscono gli aspetti che sono stati studiati e valutati per poter trasferire questa biotecnologia nella pratica vivaistica.

In particolare l'azienda vivaistica S.P.O. ha messo a disposizione parte delle strutture e dei materiali necessari per la realizzazione della

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

sperimentazione, nonché il personale tecnico esperto nella conduzione delle diverse fasi di propagazione e allevamento delle piante in uso mentre il Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle specie legnose si è occupato di monitorare periodicamente lo sviluppo stesso delle piante procedendo ad effettuare analisi accurate sulla base di parametri ritenuti importanti.

CAPITOLO 5.

MATERIALE E METODI

La sperimentazione si è svolta in una parcella all'interno del vivaio "S.P.O.". La scelta del luogo non è stata casuale in quanto innanzitutto era indispensabile rispettare al meglio le condizioni tipiche delle tecniche di vivaio e quindi per ottenere risultati più verosimili, inoltre è importante considerare anche il notevole risparmio economico dovuto al trasporto e la gestione stessa del materiale vegetale a carico del vivaio stesso.

La scelta delle piante si è indirizzata verso due varietà tipiche del nostro contesto olivicolo toscano, Frantoio e Leccino. Di queste, sono state scelte, in maniera casuale, 200 piante per ciascuna varietà propagate per talea e ulteriori 100 piante di solo Frantoio propagato con il metodo classico dell'innesto. Gli olivi non sono mai usciti dalla serra di coltivazione e, una volta trattati secondo il tipo tesi, sono stati inseriti nel normale ciclo produttivo del vivaio.

Nel trattare i vari aspetti del lavoro sperimentale, provvederemo ad esaminare in primo luogo il materiale vegetale propagato per talea e relativo alle specie Frantoio e Leccino e separatamente le piante di Frantoio propagate per innesto.

Questa organizzazione operativa è anche motivata dal fatto che, su i due gruppi di piante diversamente propagati, sono state effettuate prove ed analisi differenti con risultati non comparabili al termine del lavoro.

5.1 – TIPO DI INOCULO IMPIEGATO

Per l'infezione delle piantine di olivo sono state utilizzate micorrize provenienti da un formulato commerciale prodotto dalla ditta francese Agrauxine-Biorize, con il nome ENDORIZE MIX. Questo ultimo è un miscuglio di più funghi quali: *Glomus mossae*, *Glomus intraradices*, *Glomus sp.* e *Sclerocystis*.

5.2 - PIANTE PROPAGATE PER TALEA

Il materiale vegetale selezionato è stato collezionato e suddiviso uniformemente per costituire quattro differenti tesi come rappresentato nella tabella seguente.

TESI	VARIETA'	TIPO	N°PIANTE
F MIC+	FRANTOIO	Micorrizzato	100
F MIC-	FRANTOIO	Non micorrizzato	100
L MIC+	LECCINO	Micorrizzato	100
L MIC-	LECCINO	Non micorrizzato	100

Tab. 1_ Tesi per la valutazione degli effetti della micorizzazione in piante di olivo, propagate per talea, cv. Frantoio e cv. Leccino, di 1 anno d'età. Per ogni cultivar sono state create due tesi: FMIC+ (Frantoio micorrizzato), FMIC- (Frantoio non micorrizzato, controllo), LMIC+ (Leccino micorrizzato), LMIC- (Leccino non micorrizzato, controllo).

Lo scopo della sperimentazione era quello di confrontare la differenza di accrescimento e sviluppo delle due varietà scelte, in condizioni standard di allevamento in vivaio con o senza l'ausilio di inoculi micorrizici.

Le talee radicate provviste di un buon apparato radicale, sono state trapiantate in gennaio 2007 in vasetti a sezione quadrata di 10 cm di lato e disposte in serra di forzatura e acclimatazione. In questa fase è stato effettuato l'inoculo dei funghi micorrizici secondo la seguente procedura:

1. Il vaso veniva inizialmente riempito per circa $\frac{1}{4}$ del volume con il comune substrato utilizzato in vivaio (miscuglio di torba, pomice, carbonato di calcio e leonardite)
2. successivamente è stato aggiunto 10 ml di inoculo con un misurino per vaso.
3. posizionamento della barbatella all'interno del vaso ed aggiunto di substrato fino a riempire il vaso per una perfetta rinvasatura.

Questa tecnica "a strati" garantiva il contatto delle micorrize arbuscolari con le radici delle barbatelle e quindi una probabilità maggiore di infezione da parte dei funghi. Inoltre, con questo protocollo risultavano agevolate e snellite le varie operazioni manuali cercando anche di non aumentare troppo i tempi necessari nell'operazione di invasatura.

Le tesi, una volta pronte e accuratamente cartellate, sono state disposte sotto la serra di forzatura. In questo luogo il materiale vegetale ha subito gli stessi trattamenti agronomici delle altre piante in vivaio, rappresentati da concimazioni ogni 3-4 settimane e trattamenti fitosanitari a seconda della stagione.

L'irrigazione all'interno della serra è centralizzata e a seconda delle condizioni climatiche si attiva procedendo a una bagnatura delle piante per un tempo di circa 5 minuti. L'impianto d'irrigazione è per aspersione e più specificatamente è a pioggia con barra fissa e ugelli dinamici. Questo sistema garantisce una distribuzione molto uniforme dell'acqua e quindi una crescita regolare del materiale vegetale. Le linee degli ugelli sono montati lungo tubi di PVC rigidi che percorrono la serra longitudinalmente e per tutto il perimetro.

La serra di forzatura e acclimatamento delle piantine da talea coincidono. Tale struttura, occupa una superficie di circa 400 metri quadrati ed è costituita da una intelaiatura portante metallica a capriate multiple, offrendo il vantaggio di ridurre al minimo i problemi d'ombreggiamento. Il materiale di copertura invece è costituito da film plastici flessibili in polietilene PE, di spessore 0,25 mm. È un materiale economico, leggero che assicura una buona trasmittanza delle radiazioni e allo stesso tempo una buona tenuta termica. L'unico difetto è la scarsa durata nel tempo che ogni quattro anni va cambiato.

5.2.1 - Rilievi agronomici

La crescita delle piante è stata rilevata attraverso il calcolo di alcuni parametri quali: l'accumulo di sostanza secca nell'apparato radicale, l'aumento di biomassa chioma espressa come peso fresco e lunghezza totale dei nuovi germogli e l'analisi della fotosintesi ovvero il calcolo dell'assimilazione netta di μmol di $\text{CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

La stagione sperimentale, iniziata i primi di giugno e terminata alla fine del mese di gennaio, è stata caratterizzata da quattro rilievi così distribuiti nel tempo:

- Rilievo n° 1: è stato il rilievo iniziale, effettuato poche settimane dopo l'operazione di trapianto, in modo da avere un dato di riferimento per i rilievi successivi. Eseguito direttamente in vivaio misurando la lunghezza di tutti i germogli su un campione di 100 piante (50 micorrizzate e 50 controllo)
- Rilievo n° 2: è stato eseguito nel mese di luglio, sempre in vivaio, con la stessa tecnica del precedente allo scopo di verificare eventuali differenze di crescita fra le tesi dopo un mese dal trattamento sul medesimo campione.
- Rilievo n° 3: i primi di settembre in vivaio è stata effettuata un'ulteriore misurazione dei germogli sempre su un campione di 100 piante (50 micorrizzate e 50 controllo). Successivamente, sono stati prelevate 5 piante per tesi, per un totale di 20 piante, ed è stato eseguito il primo rilievo distruttivo in laboratorio. Sono stati esaminati alcuni parametri importanti, sempre con l'obiettivo di analizzare le differenze di sviluppo tra le tesi, quali: il peso fresco dei rami (Pf rami), il peso fresco delle foglie (Pf foglie), il peso fresco della chioma (Pf chioma) che è la somma tra il Pf rami e Pf foglie , il peso fresco delle radici (Pf rad), il peso secco delle radici (Ps rad)
- Rilievo n° 4: quest' ultimo rilievo distruttivo è stato eseguito a fine Novembre, con l'obiettivo di monitorare l'andamento della crescita delle piante sempre in termine di peso utilizzando 15 piante per tesi.

5.2.2 – Rilievi distruttivi eseguiti a fine crescita

Le piante per tale analisi sono state scelte all'interno della fila di coltivazione sotto serra in maniera casuale (random). Sono state poi portate in laboratorio e successivamente è iniziato il lavoro vero e proprio di valutazione che consisteva nelle seguenti operazioni in ordine cronologico:

1. svasatura e lavaggio accurato, con acqua corrente e appositi setacci, dell'apparato radicale cercando di preservare il più possibile le radici ed eliminando tutti i residui di pomice e torba.
2. asciugatura dell'apparato radicale e pesata di quest'ultimo per determinare il peso fresco (PF)
3. determinazione del peso fresco della chioma, separando i rami dalle foglie

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

4. passaggio in stufa a 80 C° per ottenere il peso secco (PS) delle radici, per un tempo complessivo di circa sei giorni
5. pesatura del materiale

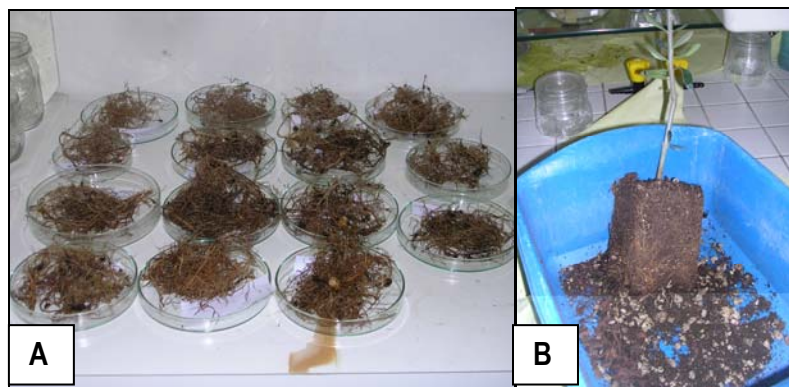


Fig. 7_ (A) Apparati radicali freschi di piante di olivo propagate per innesto. (B) Particolare durante le fasi del rilievo distruttivo, per il lavaggio delle radici.

Questo metodo ha permesso di evidenziare gli andamenti di crescita delle piante delle varie tesi e di valutare gli effetti della micorrizzazione sulle piantine di olivo (MIC+). L'attenzione maggiore è stata rivolta verso l'esame dell'apparato radicale (elemento indispensabile per l'infezione del fungo) considerando sia la sua conformazione sia l'accumulo di sostanza secca.

I dati così ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica della varianza utilizzando il pacchetto software statistico SPSS ver.12.

5.2.3 - Rilievi metrici

I rilievi metrici sono stati effettuati sia in vivaio, come precedentemente descritto, sia in laboratorio durante i rilievi distruttivi. Il concetto di base era quello di misurare la lunghezza di tutti i germogli presenti sulla pianta testata includendo anche l'asse principale. Tale analisi è stata eseguita con un semplice metro flessibile.

5.3 – RILIEVO DELLA FOTOSINTESI

Per valutare al meglio le potenzialità delle piantine micorrizzate, anche sotto l'aspetto biochimico della fotosintesi, sono state effettuate alcune prove misurando la fotosintesi stessa con l'obiettivo di individuare eventuali differenze significative fra le piante micorrizzate e quelle di controllo. Sono stati quindi eseguiti due test, il primo all'inizio di ottobre direttamente in vivaio il successivo verso la metà dello stesso mese in laboratorio. Per il calcolo, sono stati utilizzati due metodi diversi: il primo eseguito in campo con una apparecchiatura portatile IRGA e il secondo in laboratorio grazie alla realizzazione di due camere (C.C.C), a tenuta stagna, in ciascuna delle quali veniva inserita una piantina. Un sensore permetteva di rilevare la quantità di CO₂ assorbita nel tempo rispetto ad una concentrazione iniziale che veniva raggiunta mediante l'aggiunta di CO₂ esogena.

5.2.1 - Metodo C.C.C.

Questo metodo è stato completamente realizzato in laboratorio creando due camere di forma prismica a base quadrata, in plexiglass e a tenuta stagna. Le dimensioni delle camere erano di 20 x 20 cm alla base ed un'altezza di 80 cm per un volume totale di 32 litri. All'interno di entrambe le camere, posizionato al centro, è stato accuratamente collocato un sensore per il rilevamento della concentrazione di CO₂ in ppm. Tali sensori, collegati ad un computer centrale, registravano grazie al software S.M.C. 050-530.266, il valore di concentrazione presente nell'ambiente ad intervalli di 10 minuti. Sono state testate 20 piante: dieci Frantoio, delle quali cinque di controllo e cinque micorrizzate e dieci Leccino (5 controllo e 5 micorrizzate). La durata media dei test era di 24 ore, e ogni analisi esaminava due piante della stessa cultivar ma di tesi differenti. La CO₂ veniva aggiunta nelle due camere tramite due tubi di silicone attraverso i quali veniva iniettata una quantità nota di gas, con una siringa.

Durante le prove all'interno dell'ambiente di sperimentazione era presente un impianto d'illuminazione supplementare per fornire la luce necessaria alle piante.

L'intensità di luce fornita, durante i test, è riportata in figura 8A.

La concentrazione iniziale della CO₂, durante i test, all'interno delle torri era di 2300 ppm circa.

Al termine della prova, sono stati raccolti tutti i dati registrati dal computer, convertiti in $\mu\text{molCO}_2 \cdot \text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e sono stati elaborati graficamente, ottenendo l'andamento medio della fotosintesi nelle due tesi a confronto per le due varietà.

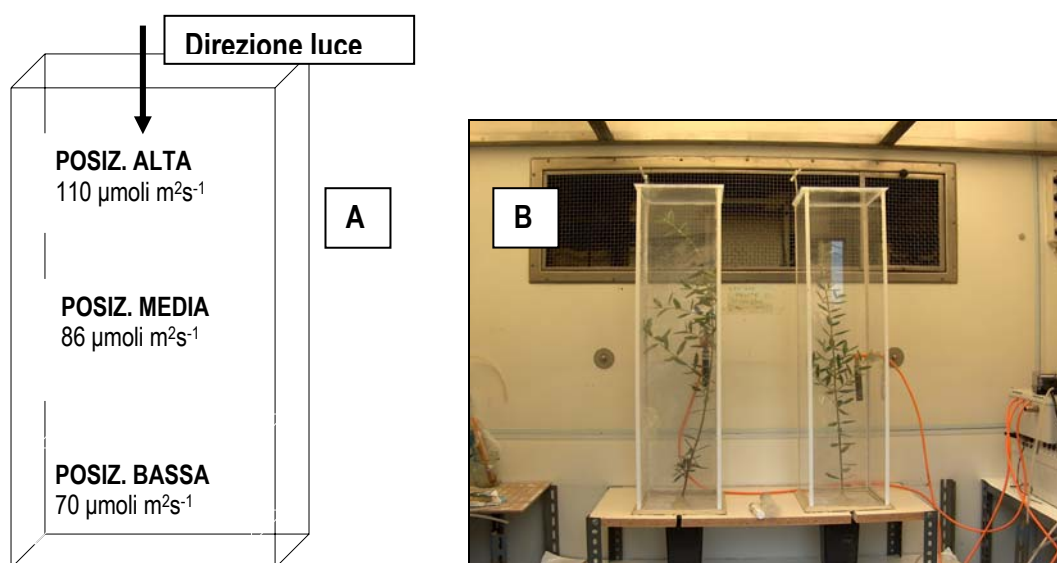


Fig. 8_ (A) Misurazione della diffusione della luce ai vari livelli della camera. (B) Camere di per il controllo della concentrazione di CO₂ (C.C.C.), a tenuta stagna, utilizzate per analizzare le differenze di fotosintesi tra le tesi micorrizzate e non di piantine d'olivo, cv. Frantoio e cv. Leccino, propagate per talea di un anno d'età.

5.2.2 - Sistema portatile per il rilievo della fotosintesi

La misura degli scambi gassosi della pianta è stata effettuata su foglie completamente espanse per mezzo di un analizzatore ad infrarosso (IRGA) portatile LI-6400 (Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, USA), che impiega una tecnica di lettura all'infrarosso non dispersiva. Lo strumento possiede quattro analizzatori di gas, per l'anidride carbonica e per l'acqua. E' equipaggiato con una camera fogliare di tipo Parkinson da 6 cm², una pompa di flusso per l'approvvigionamento di aria esterna, un mixer di CO₂ e una fonte luminosa esterna regolabile. Il funzionamento è a ciclo aperto ed il sistema è in grado di misurare i diversi parametri attraverso una serie di sensori e le quattro celle di lettura. L'aria acquisita dall'esterno viene filtrata e riaggiustata in relazione a valori predefiniti dall'operatore, in modo da

avere una composizione sempre costante. Si può operare con lo strumento utilizzando l'irradiazione naturale oppure fornendo alla foglia un'intensità luminosa predefinita. Nel nostro caso tutte le misure sono state effettuate illuminando la foglia con un'intensità di PAR di $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Lo strumento rileva le variazioni di concentrazione di CO_2 e di vapore acqueo che si verificano all'interno della camera fogliare nell'unità di tempo, a causa dell'attività fotosintetica di fissazione della CO_2 e della traspirazione di acqua.

I principali parametri misurati dallo strumento sono:

- Assimilazione netta (A , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$);
- Conduttanza stomatica (g_s , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$);
- Traspirazione fogliare (E , $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$);
- Concentrazione di anidride carbonica nel mesofillo (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol air}^{-1}$);
- Temperatura fogliare;
- Anidride carbonica, temperatura e radiazione solare dell'ambiente.
- $\text{WUE} = A/E$ (Efficienza di uso dell'acqua)

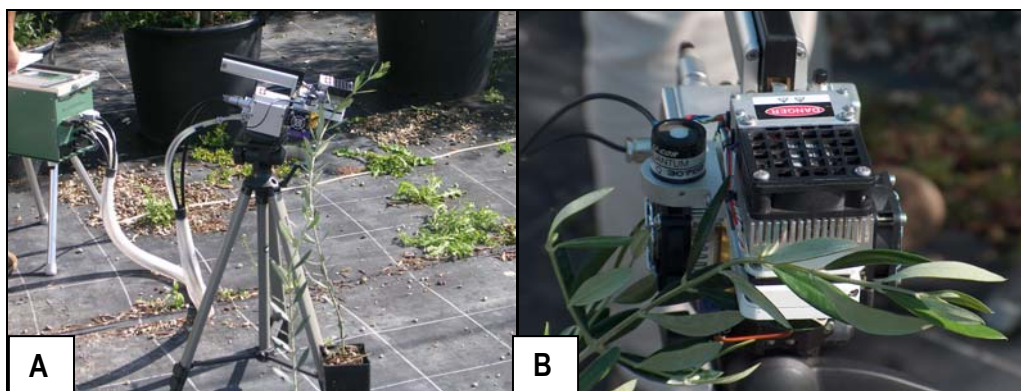


Fig. 9_ (A) Analizzatore ad infrarosso (IRGA) portatile LI-6400 (Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, USA), che impiega una tecnica di lettura all'infrarosso non dispersiva. Utilizzato per la misurazione della fotosintesi in vivaio, di piante d'olivo, cv. _Frantoio e cv. Leccino, propagate per talea. (B) Particolare dell'analizzatore ad infrarosso: una camera fogliare di tipo Parkinson da 6 cm^2 .

5.3 – RILIEVO DELL'INFEZIONE RADICALE

Oltre ai rilievi agronomici precedentemente descritti, una parte fondamentale del lavoro di ricerca è stato rappresentato dalla valutazione dell' infezione micorrizica nelle radici di olivo. Questo test si basa sulla colorazione differenziale delle radici (Clearing and staining technique, Phillips e Hayman, 1970) e sulla misura della percentuale di lunghezza radicale infetta (Gridline intersect method, Giovanetti e Mosse, 1980). La procedura prevede le seguenti fasi:

1. Immersione di un campione rappresentativo di radici o di segmenti radicali (2-5 g) in una provetta di vetro contenente KOH.
2. Predisposizione delle provette contenenti le radici in un bagnomaria, a + 90 C°, per un tempo variabile da 30 minuti a 1 h, a seconda del diametro radicale.
3. Risciacquo del campione in acqua corrente e acidificazione in HCl
4. Aggiunta al campione radicale di Trypan blu al lattofenolo, un colorante, e trasferimento delle provette in un bagnomaria a + 90C° per 5 minuti.
5. Rimozione dell'eccesso di colorante, risciacquando il campione in acido lattico puro. Il campione può essere mantenuto per alcuni giorni in acido lattico e successivamente esaminato al microscopio stereoscopico per la stima quantitativa della infezione radicale.
6. Disposizione del campione in una piastra Petri al di sopra di una griglia disegnata su carta costituita da linee rette intersecanti perpendicolarmente, distribuzione delle radici uniformemente sopra la griglia e osservazioni al microscopio stereoscopico (20-50 ingrandimenti).
7. Conteggio di tutti i punti in cui una linea retta della griglia interseca una radice, registrando mediante un contatore manuale la presenza o meno dell'infezione micorrizica nel punto individuato.

Il numero dei punti radicali in cui è presente l'infezione, diviso per il numero totale delle intersezioni tra radici e linee rette, moltiplicato per 100, darà la percentuale di lunghezza radicale infetta. Se si avrà l'attenzione di utilizzare una griglia con distanze tra le linee rette di 1,27 cm, il numero totale delle

intersezioni darà direttamente la lunghezza in centimetri del campione radicale studiato ed il numero di intersezioni in cui le radici sono positive all'infezione darà i cm di lunghezza radicale infetta del campione in esame (Newman, 1966; Giovanetti e Mosse, 1980). Questo metodo di calcolo è basato sulla formula matematica di Newman, che mette in relazione la lunghezza di linee curve disposte in una data area con il numero di volte che esse intersecano delle linee rette poste a caso nell'area occupata da esse.

5.4 - ASTONI PROPAGATI PER INNESTO

In questo primo anno di sperimentazione, il materiale vegetale propagato per innesto utilizzato, era rappresentato unicamente dalla varietà Frantoio. Sono stati scelti in maniera casuale 100 esemplari nello standard di produzione della S.P.O. e con questi, sono state realizzate 4 tesi differenti come meglio descritto nella tabella seguente:

TESI	TIPO	N° PIANTE
Mic+ C	Piante Micorrizzate concimate	50
Mic+ C-	Piante Micorrizzate non concimate	50
Controllo	Piante ottenute secondo le procedure standard adottate in vivaio	50
Mic- C-	Piante non micorrizzate e non concimate	50

Tab. 2_ Tesi per la valutazione degli effetti della micorrizazione in piante di olivo, propagate per innesto, cv. Frantoio, di 1 anno d'età. Sono state create 4 tesi: MIC+C (Frantoio micorrizzato e concimato), MIC+C- (Frantoio micorrizzato non concimato), Controllo (Frantoio allevato nelle condizioni standard di vivaio, solo concimazioni), MIC-C- (Frantoio non micorrizzato, controllo).

Le piante erano di un anno di età e provenivano dal nostaio. L'inoculazione è stata effettuata nel gennaio 2007 quando gli olivi venivano trapiantati in contenitori di plastica di 5 litri di volume.

Come nel caso delle talee l'inoculazione è stata effettuata manualmente e seguendo la stessa procedura:

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

1. Riempimento per circa $\frac{1}{4}$ del volume del vaso con lo stesso substrato, precedentemente descritto, utilizzato nel trapianto delle talee.
2. Aggiunta di 10 ml/vaso di ENDORIZE MIX disponendo poi la pianta al di sopra di esso, per assicurare il contatto con le radici
3. Riempimento del vaso ricalzando la pianta con l'aggiunta di altro substrato.

Le piante, suddivise in gruppi a seconda del trattamento ricevuto, sono state poi riportate in serra per continuare l'allevamento tipico del vivaio, seguendo quindi i calendari di concimazioni e i trattamenti fitosanitari. Un particolare, che differenzia le pratiche colturali tra i due metodi di propagazione, è rappresentata da interventi di "cimatura" sulla nuova vegetazione. Questa operazione è eseguita dai tecnici del vivaio durante i numerosi controlli di produzione. Gli interventi si basano su dei semplici tagli che accorciano germogli ritenuti troppo vigorosi o posizionati male nell'architettura dell'astone, provocando quindi la perdita di vigore del germoglio stesso e lo sviluppo di nuovi germogli "anticipati" sul ramo (aumentando la densità della chioma).

5.4.1 - Rilievi agronomici

L'accrescimento delle piante per innesto e le differenze fra le varie tesi sono state quantificate, in un unico rilievo finale, attraverso la misurazione di alcuni parametri come il peso fresco della chioma (PF chioma) e delle radici (PF rad), il peso secco dell'apparato radicale (PS rad), il rapporto fra chioma e radici (chioma/rad), la lunghezza media dei nuovi germogli (MED germ) e l'area fogliare totale (A fogl. Tot.).

A differenza dei rilievi precedenti eseguiti alle talee, questa indagine è stata più estesa in quanto sono stati rilevati ulteriori parametri di crescita come la lunghezza dei nuovi germogli e la presenza o meno di interventi di cimatura.

I rilievi sono stati eseguiti secondo la seguente procedura:

1. Campionamento di 15 piante per tesi, per un totale di 60 piante. In ciascuna pianta, sono stati misurati sia l'asse principale che tutti i nuovi germogli distinguendo in cimati, anticipati e di un anno.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

2. L'astone è stato tagliato al di sopra dell'innesto per agevolare le operazioni di lavaggio delle radici con acqua corrente e settaccio. Le radici lavate ed asciugate sono state pesate per rilevare il peso fresco
3. La parte aerea è stata suddivisa in foglie e fusto più germogli pesando singolarmente le due parti. Infine è stato calcolato il PF dell'intera chioma sommando i due dati.
4. Le foglie, infine, sono state contate e si è proceduto alla misurazione dell'area fogliare.

Dall'esame visivo e da un successivo rilievo metrico del materiale vegetale della tesi Mic+ C+, ancora in vivaio, è stato rilevato una differenza di accrescimento molto accentuata. E' stato quindi suddiviso in tre categorie distinte: "Taglia grande", "Taglia media", "Taglia piccola".

La caratteristica principale che ha determinato tale differenziazione è stata l'altezza del asse principale dell'astone e una maggior vigore vegetativo della categoria "Taglia grande" rispetto alle altre:

- "Taglia grande" 130 cm
- "Taglia media" 120 cm
- "Taglia piccola" inferiore a 115 cm

E' stato quindi effettuato un conteggio delle piante appartenenti a ciascuna categoria per poi ottenere una % sul totale. Le piante di "Taglia grande" rappresentavano il 55 % del totale, la categoria "Taglia media" il 35% mentre le "Taglia piccola" il 10%. Dato che le piante appartenevano alla stessa tesi e pertanto hanno ricevuto lo stesso trattamento, abbiamo supposto che le cause di tali differenze di sviluppo erano da ricercare o da diverse condizione d'allevamento in vivaio o da motivi genetici derivanti dalla coltura dei semenzali.

Sono state quindi prelevate 15 piante per categoria e si è proceduto alla loro distruzione per determinare i seguenti parametri: il peso fresco della chioma (PF chioma), il peso fresco delle radici (PF radici), il peso secco dell'apparato radicale (PS radici) e il rapporto chioma radici (C/R).

5.5 - AREA FOGLIARE

Per il calcolo delle aree fogliari è stato utilizzato un software Image tool che, tramite l'ausilio di uno scanner permette di calcolare l'area totale del campione e la dimensione media delle foglie.

Sono stati confrontati due metodi per rilevare l'area fogliare:

- Il primo consisteva nello scannerizzare la foglia dell'intera chioma, operazione che, a seconda della dimensione della pianta poteva essere piuttosto laboriosa ma con il vantaggio di avere una misura esatta di tale parametro.
- Il secondo invece, veniva effettuato solo su una parte della chioma preparando 8 campioni diversi di foglie della stessa pianta, di peso e numero noto. Una volta scannerizzato i vari campioni e quindi calcolate le rispettive aree, era possibile costruire una retta di regressione mettendo in relazione il peso fresco delle foglie e la relativa area fogliare. Ottenuta così una funzione matematica di primo grado eravamo in grado di correlare qualsiasi "PF foglie totale" ad una determinata area fogliare totale.

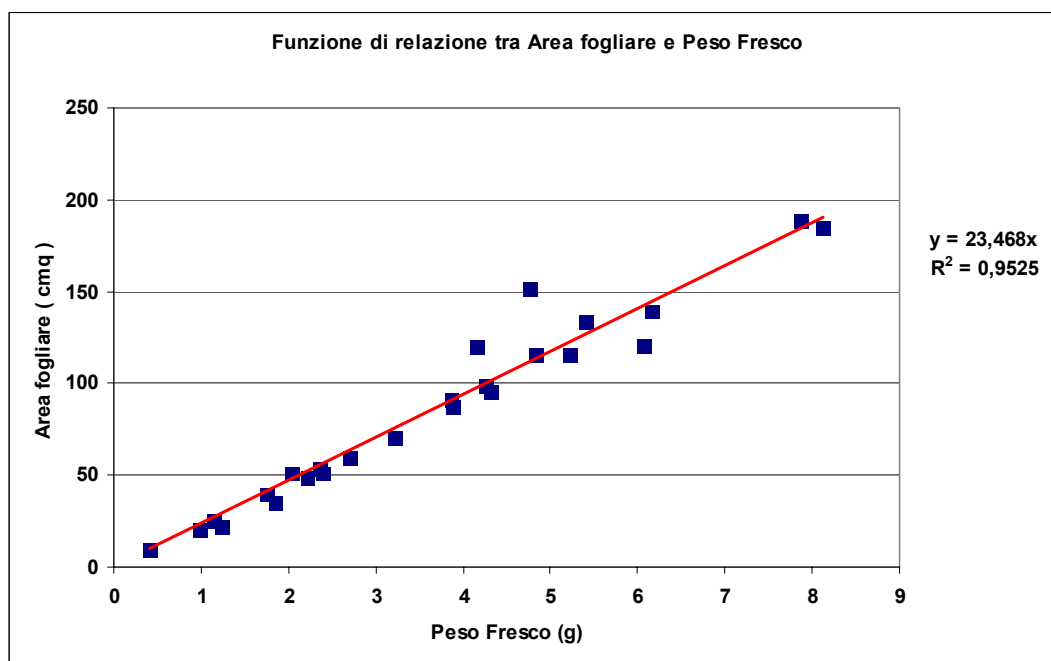


Fig. 10_ Retta di regressione tra il peso fresco delle foglie e la loro area. Ciascun punto rappresenta una coppia di dati, area fogliare e il peso fresco delle foglie, di campioni prelevati a random sulle piante testate. La funzione della retta è $y = 23,468x$.

Nel presente lavoro sono stati utilizzati entrambi i metodi: il primo per precisare l'area fogliare delle piante ottenute da talea (di più piccole dimensioni), il secondo per le piante innestate, per le quali il rilievo dell'area fogliare sarebbe stato particolarmente oneroso considerando il notevole sviluppo del materiale vegetale. Come conferma della affidabilità del metodo tramite regressione, si è proceduto a ricalcolare i dati delle piantine da talea con la funzione matematica, ottenendo valori molto simili.

5.6 - EFFICACIA DELL'INOCULO

Un aspetto importante da tenere presente nell'introduzione della tecnica della micorrizzazione in vivaio è quello elevato costo dell'inoculo stesso.

Nasce quindi l'esigenza, da parte del vivaista, di poter riprodurre autonomamente l'inoculo in azienda per poter ammortizzare i costi di produzione.

L'inoculo è rappresentato da una piccola quantità di uno specifico substrato contenente uno o più funghi micorrizici selezionati, che posto nel substrato di coltura di una determinata pianta si insedia sulle radici instaurando una simbiosi mutualistica.

Con l'obiettivo di saggiare la bontà dell'inoculo utilizzato per la sperimentazione (ENDORIZE MIX) e di mettere a punto un protocollo per l'applicazione delle micorrize nella pratica olivicola vivaistica è stata allestita una prova di laboratorio.

Inizialmente è stato prelevato del terreno di cava sabbioso utilizzato presso la S.P.O. per la germinazione dei noccioli d'olivo. Il substrato, una volta sterilizzato in autoclave, è stato inoculato con il ENDORIZE MIX. Successivamente sono state preparate 2 tesi, con 10 ripetizioni ciascuna, utilizzando due differenti "piante trappola" (trifoglio e girasole) ovvero essenze botaniche in grado d'instaurare rapporti micorrizici con tutte le più frequenti specie di funghi AM (Raman e Mahadevan, 1996) con l'obiettivo di valutare la migliore specie vegetale da utilizzare come ospite per la riproduzione dell'inoculo.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

Le piante sono state seminate nel substrato già inoculato e fatte germinare all'interno di una camera di crescita per 3 mesi. Una volta eliminate le parti aeree è stato prelevato un campione di substrato e radici che costituiva il nostro nuovo inoculo.

Con l'obiettivo di saggiare l'efficacia dei due differenti inoculi prodotti è stata allestita una seconda prova in cui la bontà dell'inoculo è stata valutata su piantine di lattuga fatte crescere su terreno sterilizzato in autoclave e di controllo (non sterilizzato). Le tesi saggiate in questo esperimento erano le seguenti:

- Inoculo "C" ottenuto da trifoglio con terreno sterile
- Inoculo "D" ottenuto da girasole con terreno sterile
- Controllo senza inoculo con terreno sterile
- Inoculo "C" ottenuto da trifoglio con terreno non sterilizzato
- Inoculo "D" ottenuto da girasole con terreno non sterilizzato
- Controllo senza inoculo con terreno non sterilizzato

L'operazione per la preparazione delle colture di lattuga prevedeva l'impiego di vasetti 180 ml di volume nei quali venivano posti dei semi di lattuga secondo il seguente schema:

- Inizialmente venivano inseriti 20 ml di perlite alla base dei vasetti per favorire il drenaggio dell'acqua d'irrigazione e aumentare la porosità del substrato.
- La perlite è stata ricoperta con 80 ml di terreno (sterile o non a seconda delle tesi)
- Aggiunta al terreno di 15 ml di inoculo ("C" da trifoglio o "D" da girasole a seconda delle tesi)
- L'inoculo infine è stato ricoperto da un primo strato di 15 ml di substrato sul quale sono stati disposti 20 semi di lattuga e infine un ulteriore strato di terreno di 5 ml per coprire i semi.

Per permettere la germinazione dei semi nelle migliori condizioni ambientali, come nel caso del girasole e del trifoglio, i vasetti sono stati collocati in una camera di crescita per 6 settimane. Successivamente si è proceduto alla determinazione di alcuni parametri utili per valutare

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

l'efficacia dei due inoculi prodotti e cioè il numero delle piantine germinate per ripetizione e il loro peso fresco (PF).

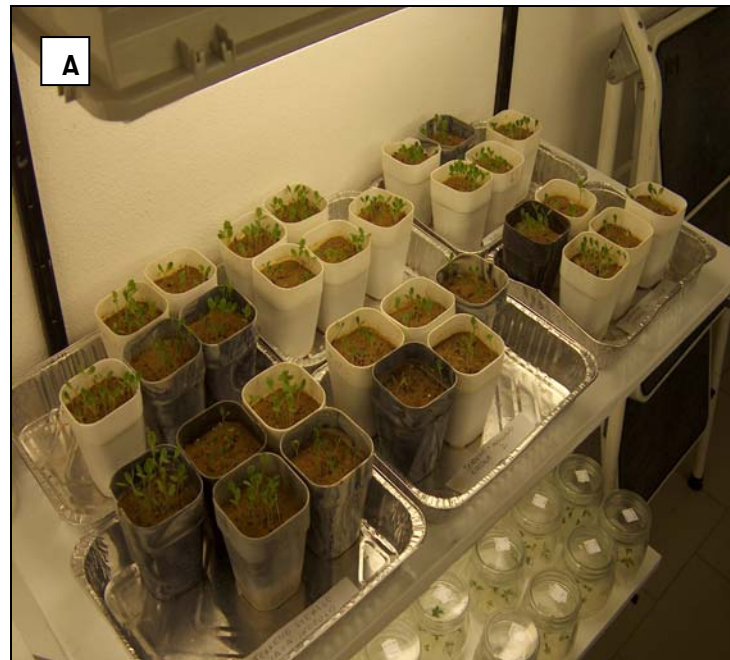


Fig. 11 - (A) e (B) Piantine di lattuga germinate in camera di crescita, appartenenti a due tesi diverse: quelle con l'inoculo "C" ottenuto da trifoglio e quelle con l'inoculo "D" ottenuto da girasole.

CAPITOLO 6.**RISULTATI E DISCUSSIONE**

Dai rilievi effettuati scalarmene durante il periodo di sperimentazione e dalla susseguente analisi statistica è stato osservato un diverso sviluppo morfologico delle piante di olivo trattate con l'inoculo micorrizico.

Dovendo esaminare l'effetto della micorizzazione su olivi ottenuti con due tipi di propagazione diversi, tratteremo prima i dati ottenuti con piante moltiplicate mediante talea e successivamente quelli ottenuti su piante innestate, seguendo l'ordine adottato nel capitolo relativo ai materiali e metodi.

6.1 – EFFETTI DELLA MICORRIZZAZIONE SU PIANTE PROPAGATE PER TALEA

L'analisi dell' accrescimento medio totale delle tesi calcolato con i rilievi metrici effettuati, mostra un andamento di crescita costante e differenziato, a seconda della cultivar e del trattamento micorrizico applicato, come è possibile osservare dalla seguente tabella e dai successivi grafici (Tab. 3 e Figg.12, 13).

Tesi	FRANTOIO				LECCINO			
	06/06/07 (cm)	20/07/07 (cm)	13/10/07 (cm)	22/11/07 (cm)	06/06/07 (cm)	20/07/07 (cm)	13/10/07 (cm)	22/11/07 (cm)
Controllo	9,4 ns	25,6 b	64,7 b	110,12 b	6,7 b	27,0 b	67,9 b	127,4 b
Micorrizzato	10,7 ns	41,7 a	92,6 a	163,5 a	9,2 a	51,2 a	95,8 a	195,3 a

Tab. 3 - Valori della crescita media riferita alla somma totale dei germogli prodotti da ogni pianta di olivo, cv. Frantoio e cv. Leccino, rispettivamente nelle tesi Mic+ (con inoculo micorrizico) e Mic- (senza inoculo) propagate per talea di 1 anno di età, rilevati durante quattro rilievi metrici della sperimentazione.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

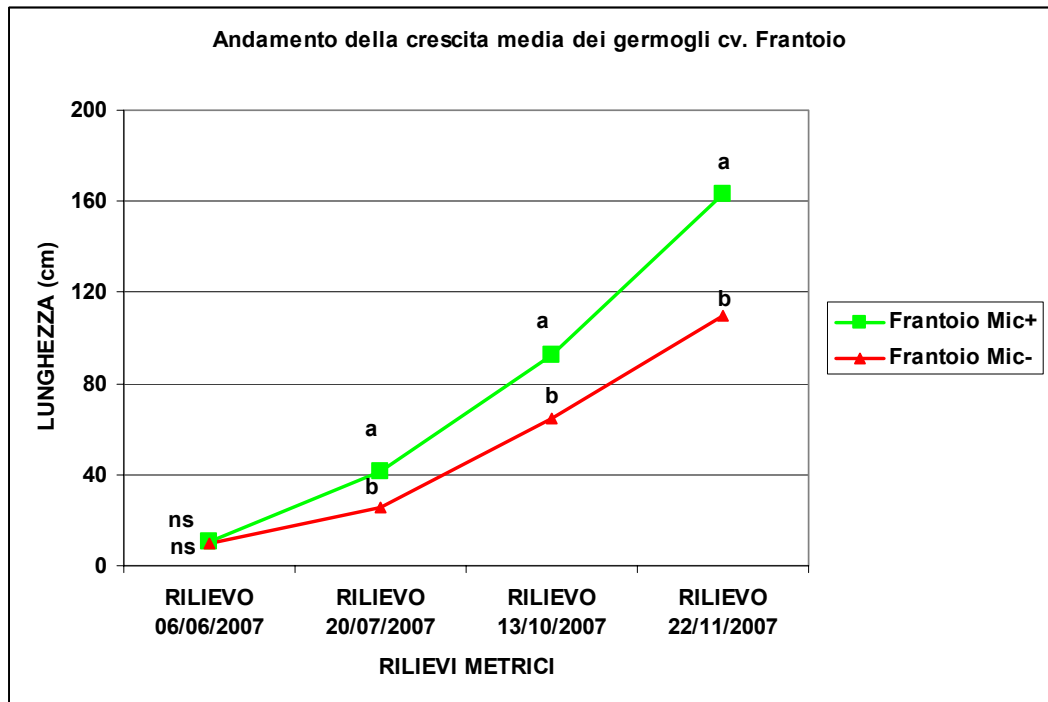


Fig. 12 - Andamento medio della crescita riferita alla somma totale dei germogli prodotti da ogni pianta di olivo, cv. Frantoio, rispettivamente nelle tesi Mic+ (con inoculo micorrizico) e Mic- (senza inoculo) propagate per talea di 1 anno di età

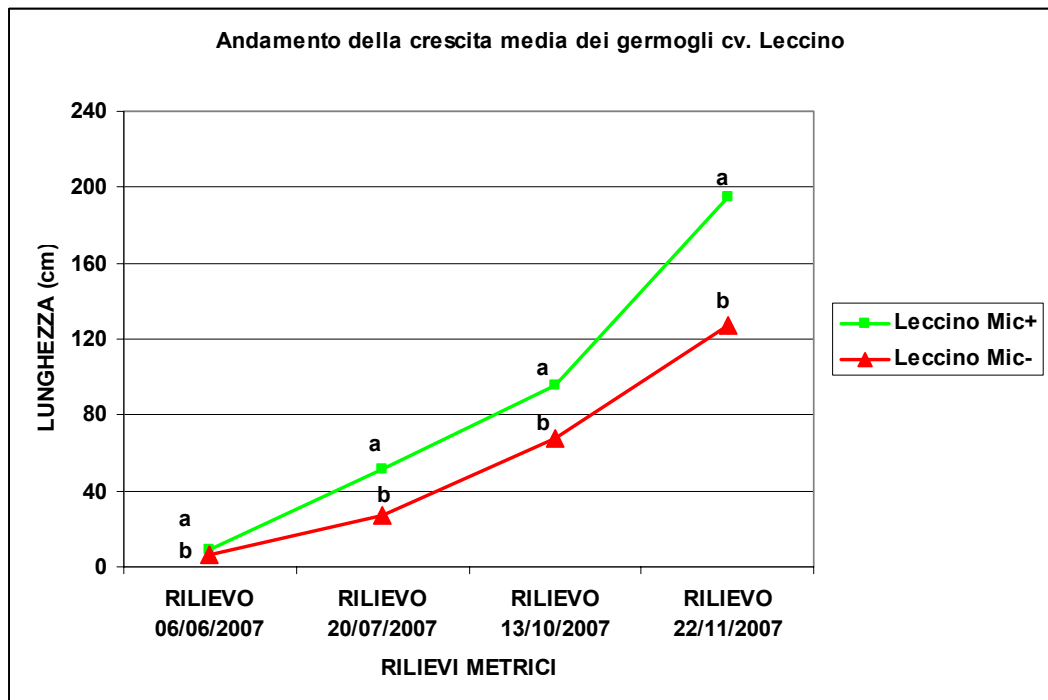


Fig. 13 - Andamento medio della crescita riferita alla somma totale dei germogli prodotti da ogni pianta di olivo, cv. Leccino, rispettivamente nelle tesi Mic+ (con inoculo micorrizico) e Mic- (senza inoculo) propagate per talea di 1 anno di età

Come è possibile osservare dai due grafici, è evidente come dal secondo rilievo, eseguito il 20/07, si inizi a denotare una differenza di accrescimento, calcolato come media della somma dei germogli totali di ogni campione, che con il passare del tempo, diventa sempre più marcato. Entrambe le cultivar evidenziano un accrescimento significativamente maggiore nelle tesi in cui è stato inoculato il fungo micorrizico, già a partire dal secondo rilievo del 20/07/2007. Addirittura la cultivar Leccino presenta differenze significative di accrescimento, sin dal primo rilievo metrico.

L'ultimo rilievo del 22/11 è il più esplicativo e comprensibile: è possibile notare infatti, come le tesi Mic+ sia di Frantoio che di Leccino raggiungano un accrescimento medio maggiore dei germogli. Al termine dei rilievi le piante micorrizzate di Leccino presentano un incremento di accrescimento totale superiore a quelle del controllo di circa il 53 % e quelle di Frantoio di circa il 45 %.

E'importante sottolineare che, comunque, sono riscontrabili evidenti differenze anche tra le tesi micorrizzate, con la cultivar Leccino che sembrerebbe più avvantaggiata dalla simbiosi mutualistica con le A.M. ottenendo così performance migliori, soprattutto nella produzione di biomassa vegetale nella parte aerea.

L'analisi della distribuzione delle piante in classi di lunghezza, effettuata in corrispondenza di ciascun rilievo, permette di evidenziare più accuratamente le differenze di accrescimento delle piante a seguito della inoculazione dei funghi. Come è possibile rilevare nelle Figg. 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 20, le piante appartenenti alle classi inferiori erano numericamente minori nelle tesi micorrizzate rispetto a quelle del controllo mentre nelle classi superiori si osservava una sempre maggiore presenza delle piante micorrizzate. Queste osservazioni confermano che, fin dai primi stati di accrescimento delle piante, la simbiosi esercitava effetti positivi che si traducevano in una chioma provvista di germogli più vigorosi ed in molti casi più numerosi.

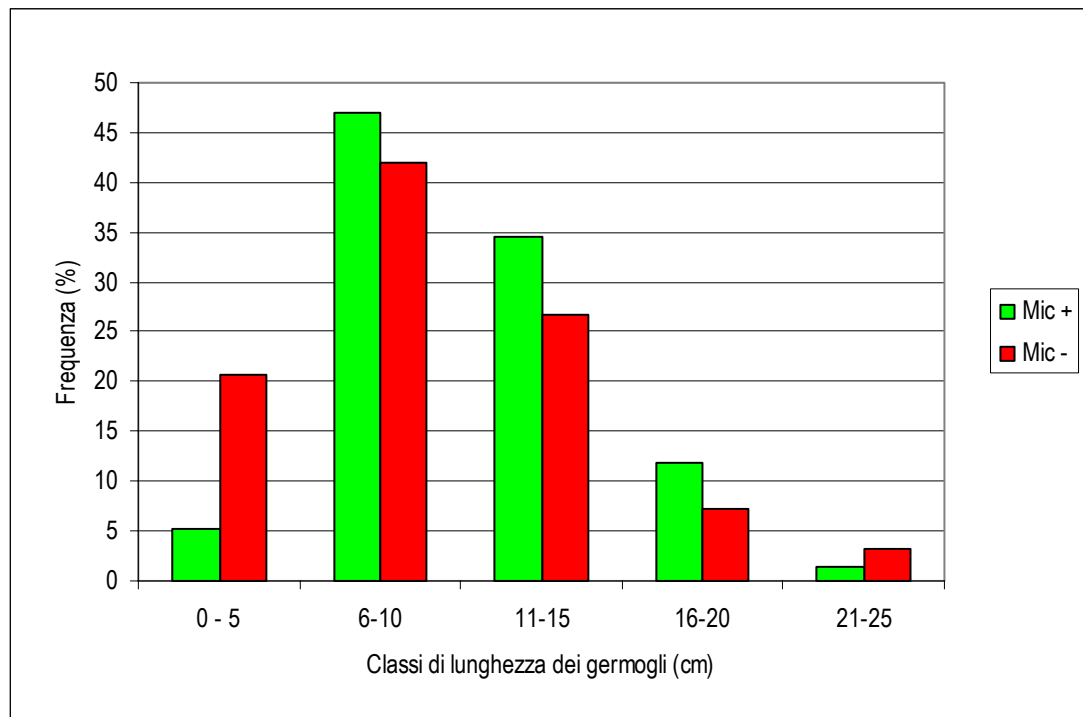


Fig. 14 – Distribuzione in classi di lunghezza delle piante di Frantoio micorrizzate (Mic+) e non (Mic-) nel rilievo del 6 giugno 2007, propagate per talea, all’inizio del I anno di accrescimento in vivaio.

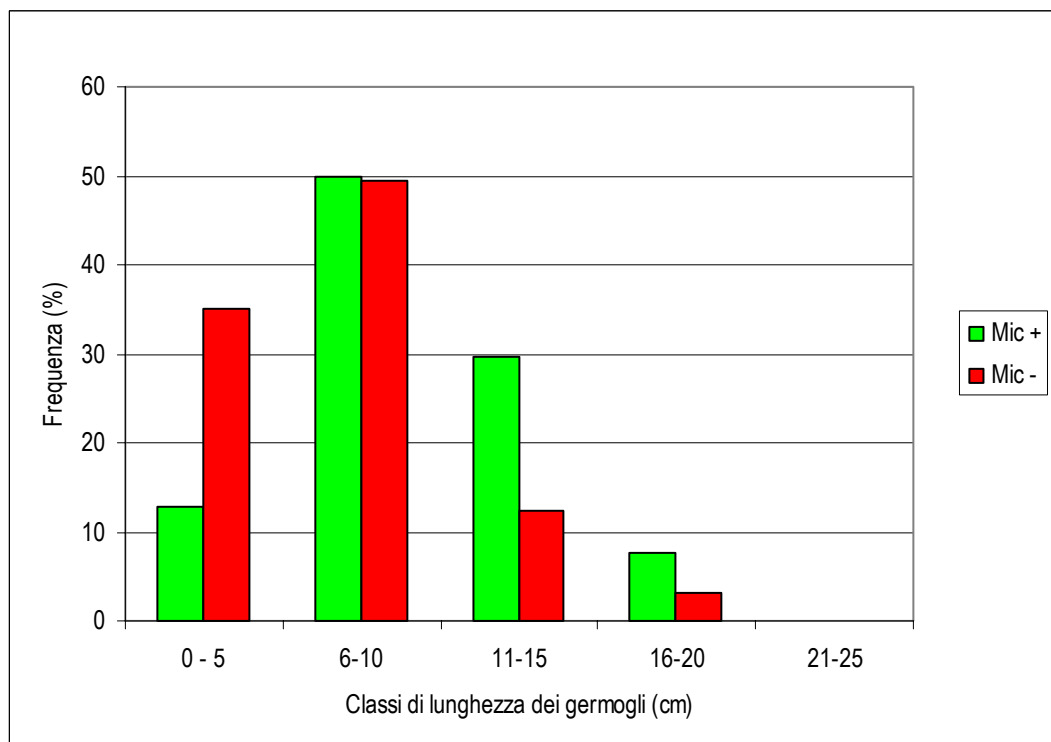


Fig. 15 - Distribuzione in classi di lunghezza delle piante di Leccino micorrizzate (Mic+) e non (Mic-) nel rilievo del 6 giugno 2007, propagate per talea, all’inizio del I anno di accrescimento in vivaio.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

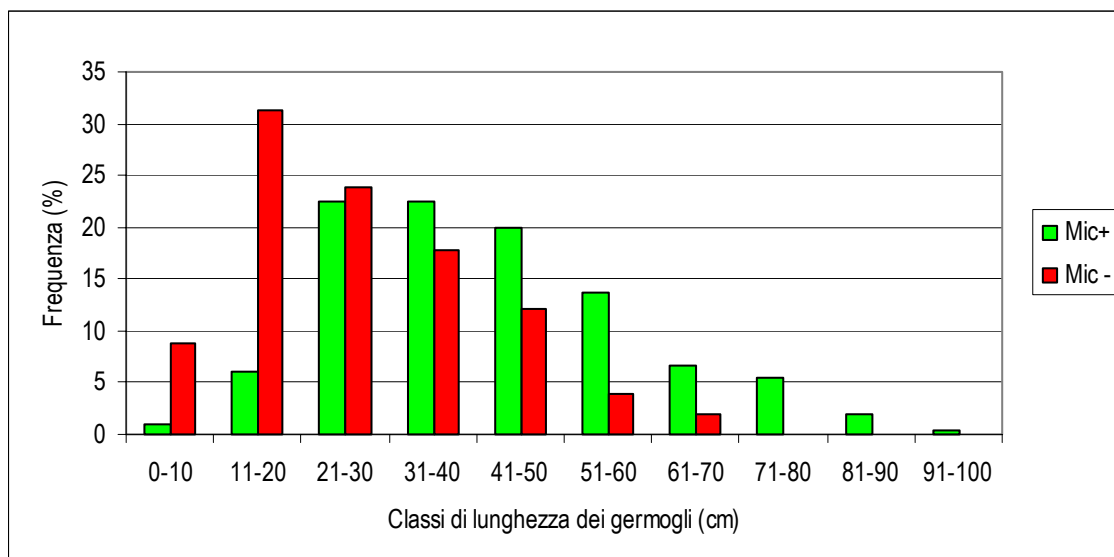


Fig. 16 - Distribuzione in classi di lunghezza delle piante di Frantoio micorrizzate (Mic+) e non (Mic-) nel rilievo del 20 luglio 2007, propagate per talea, durante il I anno di accrescimento in vivaio.

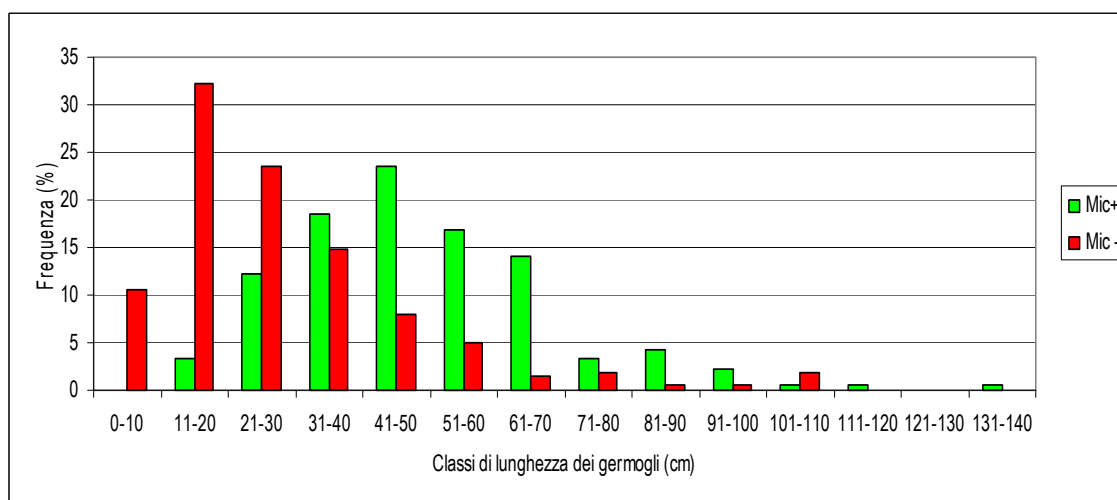


Fig. 17 - Distribuzione in classi di lunghezza delle piante di Leccino micorrizzate (Mic+) e non (Mic-) nel rilievo del 20 luglio 2007, propagate per talea, durante il I anno di accrescimento in vivaio.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLA

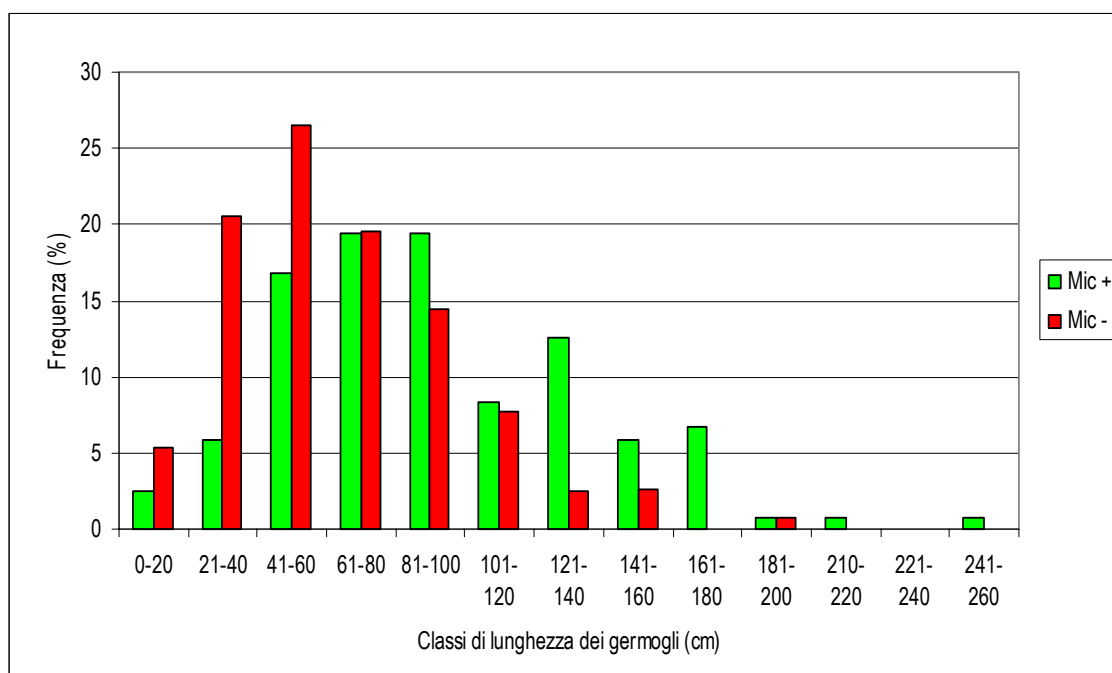


Fig. 18 - Distribuzione in classi di lunghezza delle piante di Frantoio micorrizzate (Mic+) e non (Mic-) nel rilievo del 13 ottobre 2007, propagate per talea, durante il I anno di accrescimento in vivaio.

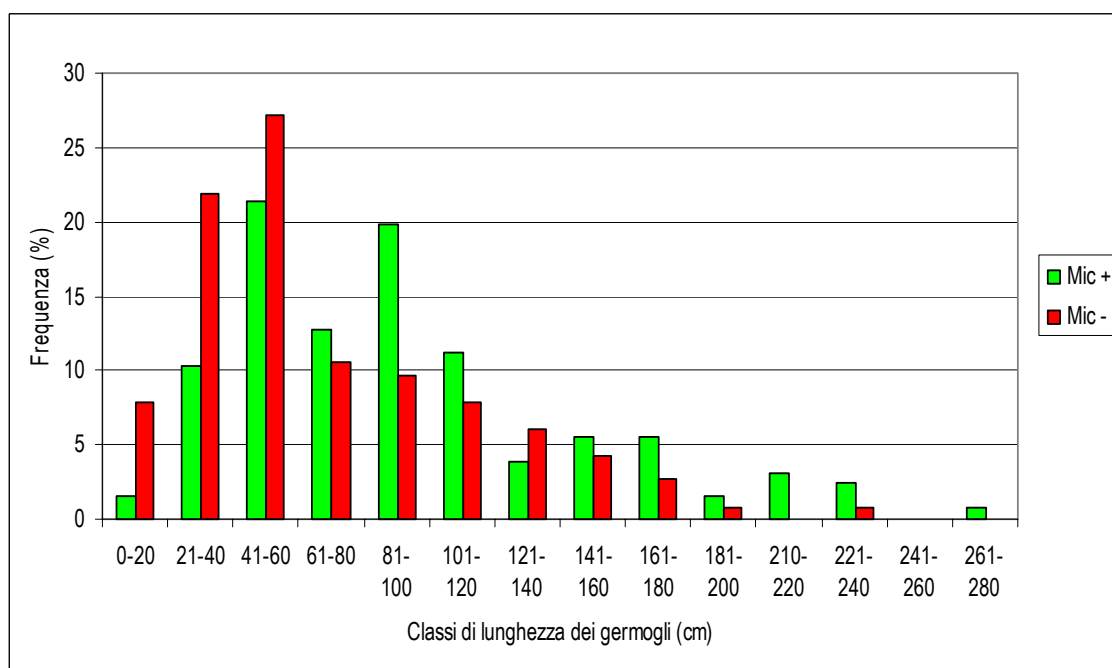


Fig. 19 - Distribuzione in classi di lunghezza delle piante di Leccino micorrizzate (Mic+) e non (Mic-) nel rilievo del 13 ottobre 2007, propagate per talea, durante il I anno di accrescimento in vivaio.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

A conferma delle suddette considerazioni, all'epoca del terzo rilievo abbiamo considerato ulteriori parametri per valutare più dettagliatamente la crescita e lo sviluppo delle piante le quali sono state sottoposte a rilievi distruttivi. Con la separazione delle diverse parti delle piante, e pesando ciascuna di esse, sono stati misurati: il peso fresco delle foglie, il peso fresco dei rami, il peso fresco della chioma (che è la somma dei precedenti), il peso fresco e secco delle radici, e l'area fogliare totale (vedi la tab.4).

	A.f.Tot. (cm²)	Pf chioma (g)	Pf foglie (g)	Pf rami (g)	PF rad (g)	PS rad. (g)
F MIC+	356,56	25,41	13,71	11,7	12,03	2,04
F MIC-	318,86	21,36	9,54	9,54	10,91	1,9
L MIC+	461,28	33,49	16,49	17	9,58	1,54
L MIC-	317,8	20,76	11,23	9,53	8,12	1,03

Tab. 4 - Caratteri morfofisiologici rilevati il 13/10 in piante di Frantoio e di Leccino propagate per talea, di 1 anno di età: micorrizzate (LMIC+ e FMIC+) e non micorrizzate (LMIC- e FMIC-). I valori rappresentano la media di 5 ripetizioni per ciascuna tesi.

L'andamento di questi dati porta a conferma quanto rilevato precedentemente: è evidente come le tesi di Frantoio e Leccino micorrizzate (F MIC+ e L MIC+) abbiano manifestato uno sviluppo generalizzato della pianta maggiore sia nelle radici, come era facilmente ipotizzabile, sia nella parte aerea. E' apparsa costante anche la tendenza da parte del L MIC+ di mantenere uno sviluppo della chioma maggiore rispetto al Frantoio. Per quanto riguarda le radici, sembrerebbe che il Frantoio, come cultivar, abbia un apparato radicale più sviluppato rispetto al Leccino pur considerando le diverse tesi.

I dati del peso fresco della chioma, del peso fresco e secco delle radici sono stati elaborati statisticamente con l'analisi della varianza al fine di evidenziare differenze significative tra le varie tesi. Qui di seguito sono riportati gli istogrammi rappresentati le differenze fra tesi delle stesse cultivar (Figg. 20 e 21)

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

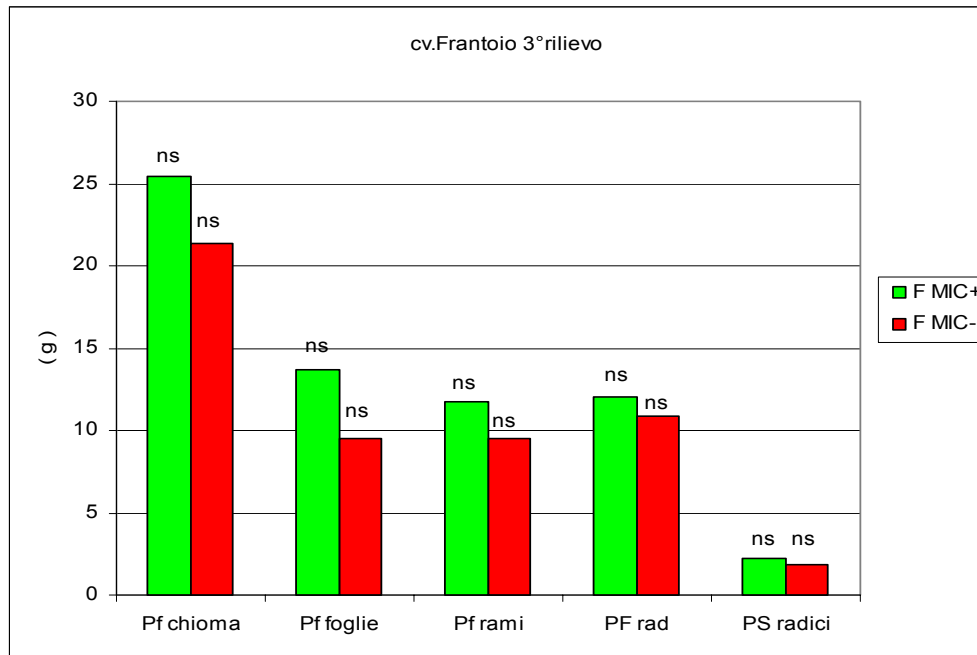


Fig. 20 - Caratteri morfofisiologici rilevati 13/10', in piantine di olivo cv.Frantoio propagate per talea, di 1 anno di età: di controllo (FMIC-) e micorrizzate (FMIC+). I valori rappresentano la media di 5 ripetizioni. In ciascuna tesi, lettere diverse indicano valori statisticamente significativi per $P \leq 0,05$ mentre ns= non significativo

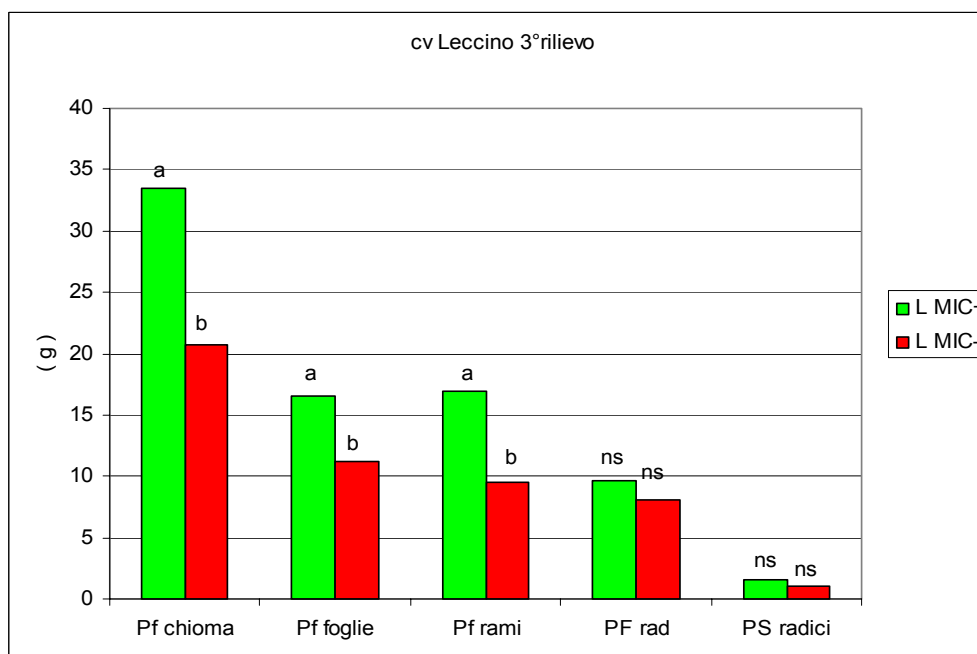


Fig. 21 - Caratteri morfofisiologici rilevati 13/10', in piantine di olivo cv.Leccino propagate per talea, di 1 anno di età: di controllo (LMIC-) e micorrizzate (LMIC+). I valori rappresentano la media di 5 ripetizioni. In ciascuna tesi, lettere diverse indicano valori statisticamente significativi per $P \leq 0,05$ mentre ns= non significativo.

	A. f.Tot. (cm²)	Pf chioma (g)	Pf foglie (g)	Pf rami (g)	PF rad (g)	PS rad.(g)
F MIC+	388,54	30,98	16,49	14,49	14,1	3,13
F MIC-	324,22	25,55	13,57	11,98	12,18	2,58
L MIC+	468,12	37,77	20,11	17,66	13,36	3,03
L MIC-	325,98	25,66	13,62	12,04	10,52	2,05

Tab. 5 - Caratteri morfofisiologici rilevati il 22/11, in piante di Frantoio e Leccino propagate per talea, di 1 anni di età: micorrizzate (LMIC+ e FMIC+) e non micorrizzate (LMIC- e FMIC-). I valori rappresentano la media di 5 ripetizioni per ciascuna tesi.

Le osservazioni che possiamo fare sui dati del quarto ed ultimo rilievo effettuato alla fine del mese di novembre nelle piantine, sono simili a quelle riportate precedentemente. Anche in questo caso sono stati utilizzati gli stessi parametri di crescita.

Infatti i valori medi dei dati relativi all'accrescimento della pianta sono maggiori rispetto al rilievo precedente, effetto della naturale crescita del materiale vegetale, ma seguono lo stesso andamento dei precedenti: l'accrescimento nelle tesi micorrizzate è stato superiore rispetto al controllo in tutte e due le cultivar, il Pf della chioma è superiore nel Leccino mentre il Frantoio ha mostrato un apparato radicale più sviluppato. Le differenze nei PS delle radici sono state invece, molto piccole inferiori a 0,5 grammi, ciò ha comportato, durante l'analisi della varianza l'assenza di differenze statisticamente significative.

Le piante della cultivar Leccino hanno presentato quindi il cosiddetto "effetto crescita", cioè l'aumento del peso fresco, della lunghezza del germoglio e del numero di foglie, evidenziando l'elevato grado di efficacia su tale cultivar dell'inoculo utilizzato ENDORIZE MIX. Il Frantoio, invece, non ha mostrato effetti accentuati a seguito della micorizzazione, anche se le piante presentavano germogli maggiormente sviluppati rispetto al controllo. Tali risultati confermano come possa esistere una marcata variabilità di risposta alle simbiosi tra le diverse cultivar all'interno della stessa specie vegetale.

Qui di seguito sono riportati gli istogrammi rappresentati le differenze fra tesi delle stesse cultivar (Figg. 22 e 23).

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

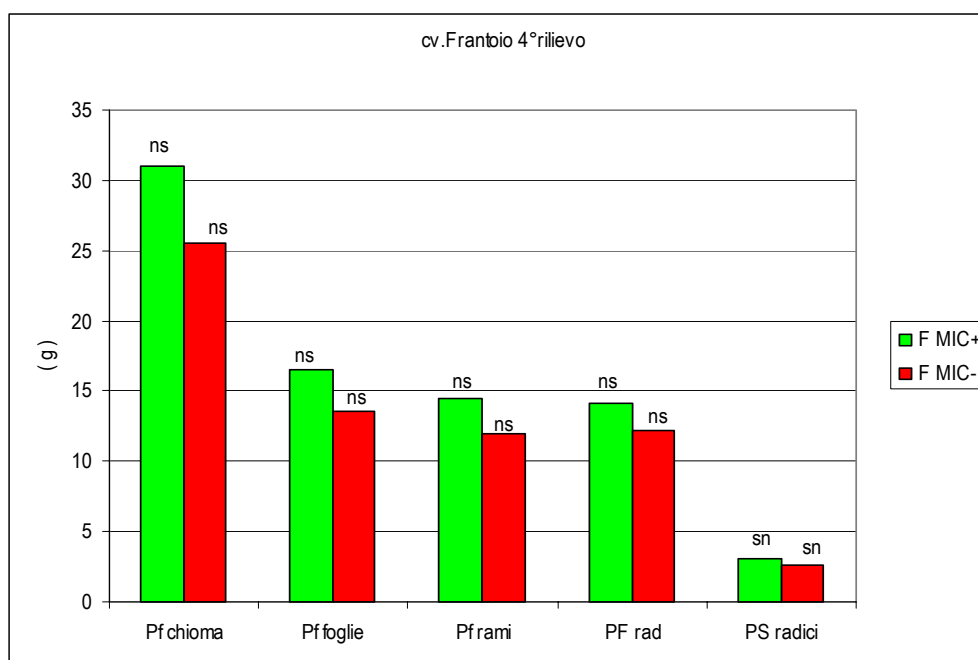


Fig. 22 - Caratteri morfofisiologici rilevati 22/11, in piantine di olivo cv. Frantoio propagate per talea, di 1 anno di età: di controllo (FMIC-) e micorrizzate (FMIC+). I valori rappresentano la media di 15 ripetizioni per ciascuna tesi, lettere diverse indicano valori statisticamente significativi per $P \leq 0,05$ mentre ns= non significativo.

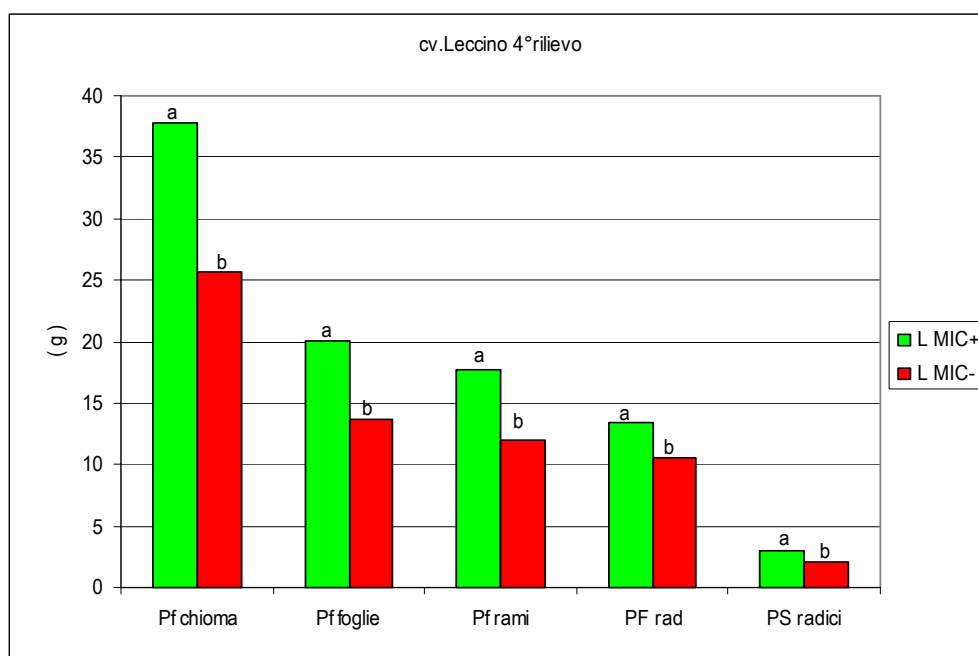


Fig. 23 - Caratteri morfofisiologici rilevati 22/11, in piantine di olivo cv. Leccino propagate per talea, di 1 anno di età: di controllo (LMIC-) e micorrizzate (LMIC+). I valori rappresentano la media di 15 ripetizioni per ciascuna tesi, lettere diverse indicano valori statisticamente significativi per $P \leq 0,05$ mentre ns= non significativo.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

TESI	PF CHIOMA / PF RADICI
Frantoio Mic+	2,197
Frantoio Mic -	2,097
Leccino Mic+	2,827
Leccino Mic -	2.439

Tab. 6 – Valori del rapporto PF chioma / PF radici, durante l'ultimo rilievo agronomico, rilevati nei due trattamenti delle cultivar in sperimentazione

Per quanto riguarda il rapporto PF chioma / PS radici i dati della tabella 6, rilevati durante l'ultimo rilievo agronomico del 22/11, mettono in evidenza come la cv. Leccino abbia in entrambe le tesi valori più alti rispetto alla cv. Frantoio, dimostrando un maggior accrescimento della chioma. L'effetto della micorrizazione all'interno di ciascuna cultivar mostra una leggera tendenza ad aumentare tale rapporto mentre le differenze tra le due cultivar sono da imputare a differenze genetiche.

6.2 – ATTIVITA' FOTOSINTETICA DELLE PIANTE MICORRIZZATE

La fotosintesi come dettagliatamente descritto nel paragrafo 5.3 è stata misurata con due strumenti e procedure diversi. Il problema principale è stato quello dell'intensità luminosa con cui sono stati raccolti i dati.

Come primo approccio al problema è stata utilizzata un'apparecchiatura consistente in due sensori all'infrarosso della CO₂, collegati ad una computer per la misurazione e la raccolta dei dati. L'attività fotosintetica è stata misurata utilizzando piantine intere di un anno, ottenuto da tale e poste in camera di plexiglas ermetiche dentro le quali veniva aggiunta CO₂ esogena, sistema C.C.C.. I rilievi protratti per circa 24 ore con un ciclo luminoso di 16 ore ed uno di buio di 8 ore. Il sistema d'illuminazione artificiale con lampade al neon raggiungeva un livello massimo di intensità luminosa di 110 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. Gli andamenti della fotosintesi media, sulle piante testate sono rappresentati nelle Figg. 24 e 25.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

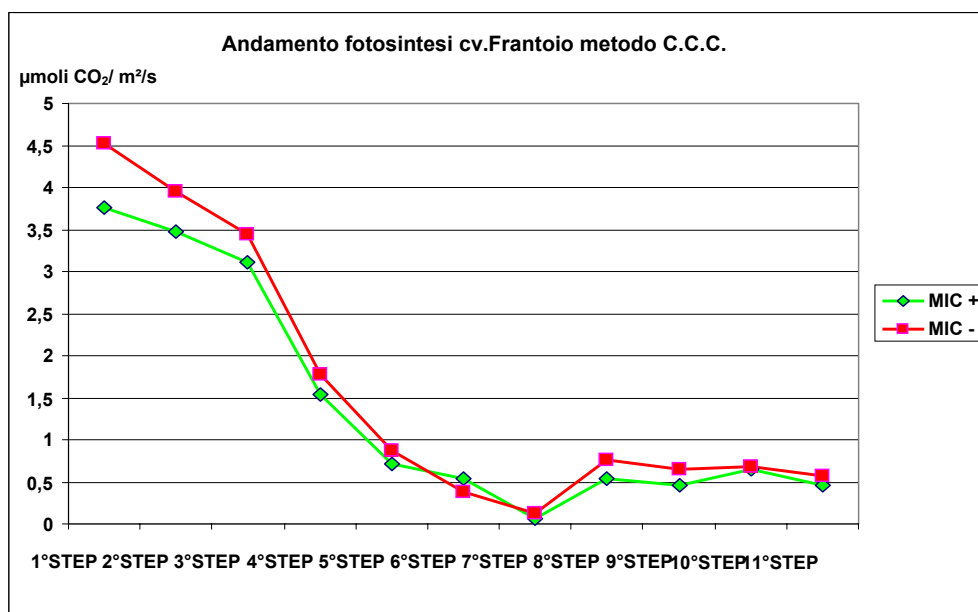


Fig. 24 - Andamento giornaliero della fotosintesi netta in piante di olivo, cv. Frantoio, nelle tesi MIC+ (con inoculo micorrizico) e MIC- (senza inoculo micorrizico), propagate per talea di 1 anno d'età. Le misure sono state effettuate nell'arco di 24 ore, ogni step equivale a due ore, con il sistema delle camere per il controllo della concentrazione di CO₂ (C.C.C.), a livelli di intensità luminosa di 110 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e una temperatura dell'aria di 22°C.

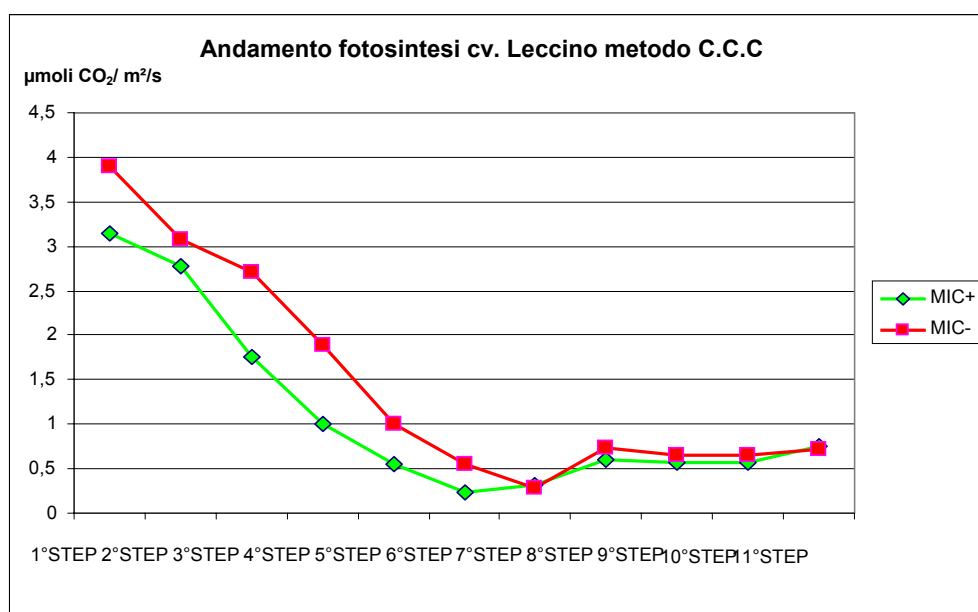


Fig. 25 - Andamento giornaliero della fotosintesi netta in piante di olivo, cv. Leccino, nelle tesi MIC+ (con inoculo micorrizico) e MIC- (senza inoculo micorrizico), propagate per talea di 1 anno d'età. Le misure sono state effettuate nell'arco di 24 ore, ogni step equivale a due ore, con il sistema delle camere per il controllo della concentrazione di CO₂ (C.C.C.), a livelli di intensità luminosa di 110 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e una temperatura dell'aria di 22°C.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

Con il sistema C.C.C, come è possibile osservare dalle figure 26 e 27 l'andamento sia per "Frantoio" che per "Leccino" è stato molto simile. Anche le differenze fra tesi della stessa cultivar sono state minime e prive di significatività statistica.

Il secondo approccio all'analisi della fotosintesi è stato rappresentato da un analizzatore ad infrarosso (IRGA) portatile LI-6400 (Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, USA), che impiega una tecnica di lettura all'infrarosso non dispersiva. Si può operare con lo strumento utilizzando l'irradiazione naturale oppure fornendo alla foglia un'intensità luminosa predefinita. Nel nostro caso tutte le misure sono state effettuate illuminando la foglia con un'intensità di PAR di $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. La tabella 7 illustra i risultati ottenuti.

	Fot. ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		Cond. stomatica ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		Cond. sotto-stomatica ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		Traspiraz. ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		Efficienza d'uso dell' H_2O	
Tesi	Media di Photo		Media di Cond		Media di Ci		Media di Trmmol		Media di WUE	
F MIC +	14	ab	0,241	a	207	a	5,629	a	2,61	ab
F MIC -	12,79	b	0,206	a	209,1	a	5,079	a	2,583	ab
L MIC +	14,29	a	0,203	a	192,3	a	6,026	a	2,404	b
L MIC -	11,285	c	0,129	b	166,4	b	4,099	b	2,835	a

Tab. 7 - Misure in campo con l'analizzatore ad infrarosso (IRGA) portatile LI-6400 (Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, USA) di fotosintesi ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{s}^{-1}$) Conduttanza stomatica ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Conduttanza sotto-stomatica ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Traspirazione ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$) e Efficienza d'uso dell'acqua (WUE), su 4 tesi di piante d'olivo, di un anno d'età, propagate per talea, appartenenti a due cultivar: Frantoio e Leccino. Le tesi sono: Frantoio micorrizzato (F mIC+), Frantoio non micorrizzato (F MIC-), Leccino micorrizzato (L MIC+) e Leccino non micorrizzato (L MIC-). I valori rappresentano la media di 15 piante per tesi. In ciascuna tesi, lettere diverse indicano valori statisticamente significativi per $P \leq 0,05$.

Come è possibile notare dai dati riportati in tabella 7 le tesi a confronto hanno evidenziato differenze significative in termini di fotosintesi.

Con l'analizzatore ad infrarosso (IRGA) portatile LI-6400 (Li-Cor Inc., Lincoln, Nebraska, USA), i valori ottenuti hanno riscontrato differenze

significative fra le tesi. Come è possibile notare dalla tabella 5, le tesi LMIC+ e FMIC+ hanno registrato valori di fotosintesi superiori rispetto ai controlli, raggiungendo una media di $14,00 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ per il Frantoio e $14,29 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ nel Leccino. Anche gli altri parametri, misurati simultaneamente dallo strumento (conduttanza stomatica e traspirazione), evidenziano valori significativamente maggiori nelle tesi inoculate con il fungo. Alti valori di fotosintesi e di traspirazione motivano una più bassa efficienza dell'uso dell'acqua (WUE), ovvero la quantità di acqua consumata per unità di carbonio organicato. In questa prova le misure effettuate illuminando la foglia con un'intensità di PAR di $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ hanno permesso di evidenziare le differenze di assimilazione delle varie tesi.

Le tesi con l'inoculo micorrizico di entrambe le varietà hanno evidenziato livelli di fotosintesi significativamente maggiori rispetto ai relativi controlli.

La varietà Leccino con trattamento micorrizico evidenzia valori significativamente maggiori rispetto a tutte le altre tesi

mentre con lo strumento portatile è stata fornita alla foglia un'intensità luminosa predefinita. Nel nostro caso tutte le misure sono state effettuate illuminando la foglia con un'intensità di PAR di $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Confrontando i risultati ottenuti con le due diverse procedure emergono differenze piuttosto accentuate le cui cause possono essere attribuite principalmente alle diverse condizioni di luce cui le piante intere nelle camere di plexiglas erano sottoposte.

Infatti, analizzando la curva di risposta del tasso di fotosintesi netta al flusso fotonico di radiazione fotosintetica incidente (PPF) per singola foglia adulta (cv. Frantoio) ed intera chioma d'olivo (vedi Fig. 26), si può notare come un livello di luce pari a $110 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, raggiunto nel sistema C.C.C., sia vicino al punto di compensazione luminosa ovvero quel valore di PPF a cui il tasso di fotosintesi netta è pari a quello della respirazione, considerando la curva di risposta del tasso di fotosintesi netta al PPF.

Da bibliografia (Fiorino P., 2003) invece risulta che la fotosintesi netta dell'olivo risulta saturata a valori di PPF superiori $500\text{-}800 \mu\text{mol fotone m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ e che oltre tale soglia, l'assimilazione non risente di variazioni nell'intensità

luminosa incidente sulla foglia. Quindi il sistema I.R.G.A lavorando ad un eccellente livello di luce pari a $1200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, ha permesso di osservare meglio le differenze tra le tesi e di evidenziare le potenzialità delle piante micorrizzate in termini di fotosintesi.

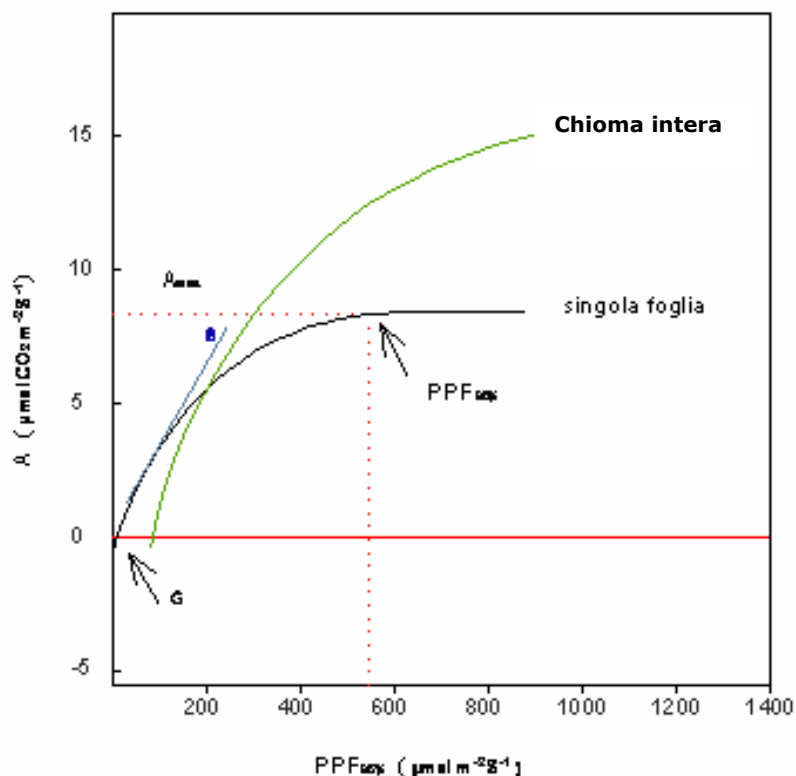


Fig. 26 - Curva di risposta del tasso di fotosintesi netta (A) al flusso fotonico di radiazione fotosintetica incidente (PPF) per singola foglia adulta (cv. Frantoio) ed intera chioma d'olivo. La linea punteggiata indica il livello di PPF a cui A della singola foglia raggiunge la saturazione. Il punto di compensazione luminoso (Γ) indica il livello di PPF a cui il tasso di fotosintesi netta è pari a quello di respirazione; l'efficienza quantica apparente (β) è stimata dalla pendenza del tratto lineare della curva di risposta della singola foglia. Condizioni di misura: CO_2 ambientale 34 PA, temperatura fogliare 24°C .

Motivo in più per confermare ipotesi si basa sull'osservazione della curva di risposta della fotosintesi netta dell'olivo concentrazioni differenti di CO_2 che ha un andamento asintotico con l'aumentare di concentrazione di CO_2 (Fig. 27). Uno studio recente condotto su piante d'olivo allevate in un'atmosfera arricchita di CO_2 , condizioni simili a quelle in cui erano sottoposte le piante nel sistema C.C.C., ha evidenziato che, l'esposizione prolungata ad elevate concentrazioni aumenta la fotosintesi netta e riduce la conduttanza stomatica, producendo un aumento dell'efficienza dell'uso dell'acqua. Quindi

l'effetto additivo dell'alta concentrazione dell'anidride carbonica nell'ambiente dei camere avrebbe dovuto aumentare i valori della fotosintesi superando quelli ottenuti in pieno campo con l'I.R.G.A.

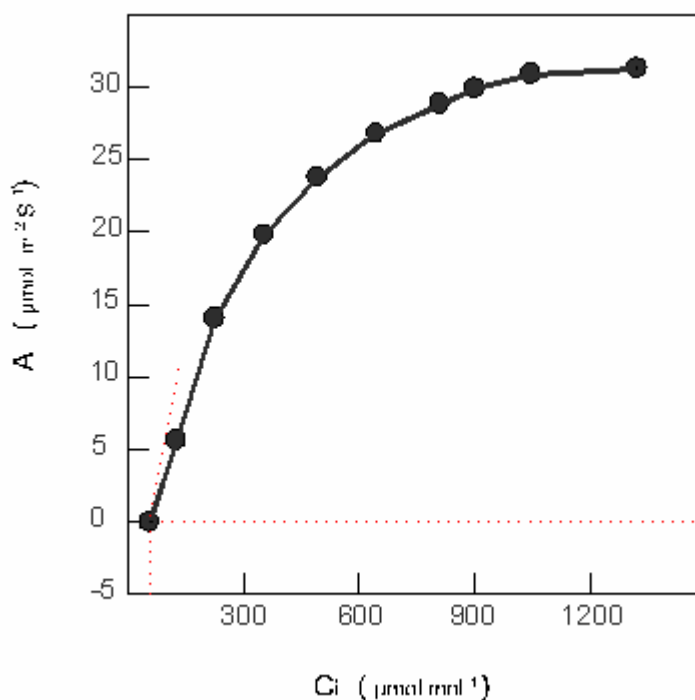


Fig. 27 - Curva di risposta della fotosintesi netta (A) fogliare alla concentrazione intracellulare di CO₂ (C_i) di olivo in vaso a livelli di saturazione della radiazione fotosinteticamente attiva, temperatura dell'aria di 30°C; tasso di respirazione in assenza di CO₂ = 7,8 μmol m⁻² s⁻¹ (Fiorino et al.2004).

Possiamo quindi confermare che la micorrizazione influenzi positivamente l'attività fotosintetica e dunque che la maggiore capacità di assimilazione della CO₂ potrebbe rappresentare un altro dei fattori responsabili del più rapido sviluppo delle piante micorrizate.

6.3 - EFFICACIA DELL'INOCULO

Gli esami effettuati per saggiare la bontà dell' inoculo utilizzato e per poter riprodurre quest'ultimo in vivaio hanno dato risultati incoraggianti. E' stato osservato, infatti, l'inoculo ENDORIZE MIX applicato a piante di lattuga coltivate in laboratorio ha indotto una pressoché totale infezione radicale su tutte le piante utilizzate, dimostrando la sua elevata capacità micorrizica.

I risultati ottenuti sulla produzione di inoculo mediante piante trappola rappresentate da trifoglio e girasole hanno dimostrato l'efficacia del metodo di riproduzione dell'inoculo in azienda. Nella tabella sottostante (Tab. 8) sono riportati i risultati ottenuti su piante di lattuga, riferiti al tipo di inoculo e al tipo di substrato impiegato, valutando il peso fresco delle piantine e la percentuale di germinazione.

	CONTROLLO		INOCULO "D"		INOCULO "C"		MEDIE	
	PF (g)	% GERM.	PF (g)	% GERM	PF (g)	% GERM	PF (g)	% GERM
no sterile	2,22	81	2,5	94	2,72	87	2,48 a	87 a
sterile	2,16	84	1,81	83	2,25	88	2,07 a	85 a
MEDIE	2,19 a	82,5 b	2,5 a	88,5 a	2,48 a	87,5 a		

Tab. 8– Valori della percentuale di germinazione di semi di lattuga e peso fresco delle piantine ottenute dopo circa 45 giorni dalla semina su terreno sterilizzato e non utilizzando due inoculi ottenuti con piante trappola diverse: trifoglio "C" e girasole "D". Le medie sono state calcolate su cinque ripetizioni di 20 semi ciascuna. Lettere diverse, per ciascun parametro indicano valori statisticamente significativi.

Valutando l'efficacia degli inoculi, è possibile osservare come entrambi, inoculo "C" preparato con il trifoglio e inoculo "D" preparato con il girasole, hanno evidenziato percentuali di germinazione e pesi freschi medi delle piantine di lattuga significativamente maggiori rispetto al controllo. Osservando invece, le medie relative al tipo di terreno è possibile notare come, non sussistano differenze significative fra le piantine di lattuga

allevate nelle tesi su terreni sterili e quelle allevate su substrato non sterilizzato.

E' possibile dire però che, le tesi allevate in terreno non sterilizzato abbiano riscontrato risultati migliori sia in termini di peso fresco che in percentuale di germinazione. Questo dato fa presumere che le micorrize in substrato non sterilizzato trovino migliori condizioni per l'infezione, conseguentemente la simbiosi mutualistica si attiva più velocemente favorendo da subito gli ospiti infettati.

6.3.1 - Verifica della presenza del fungo nelle radici

Durante le analisi alle radici delle piante di olivo per verificare la presenza o meno della micorriza arbuscolare e per stimare la percentuale di radici infette, sono state riscontrate difficoltà durante la procedura di decolorazione. Questa fase permetteva attraverso l'utilizzo di KOH di chiarificare i tessuti prima del trattamento con il colorante Trypan blu al lattofenolo, il quale a sua volta rendeva più chiara la visione del fungo con il microscopio a scansione. Purtroppo i tessuti delle radici di olivo, soprattutto quelle più vecchie, apparivano spesso con una colorazione troppo intensa che non sempre permetteva la visione del fungo (Fig. 26).



Fig. 28 – Foto con il microscopio ottico di un campione di radici di olivo trattate con il Trypan blu al lattofenolo durante le analisi sulla presenza e la quantità della micorriza. Notare la colorazione molto intensa che non ha permesso una chiara visualizzazione dei campioni

Nonostante ciò, nelle radici più giovani è stato possibile rilevare la presenza della micorriza, attraverso l'osservazione degli arbuscoli o delle ife del fungo (Figg. 27 e 28).

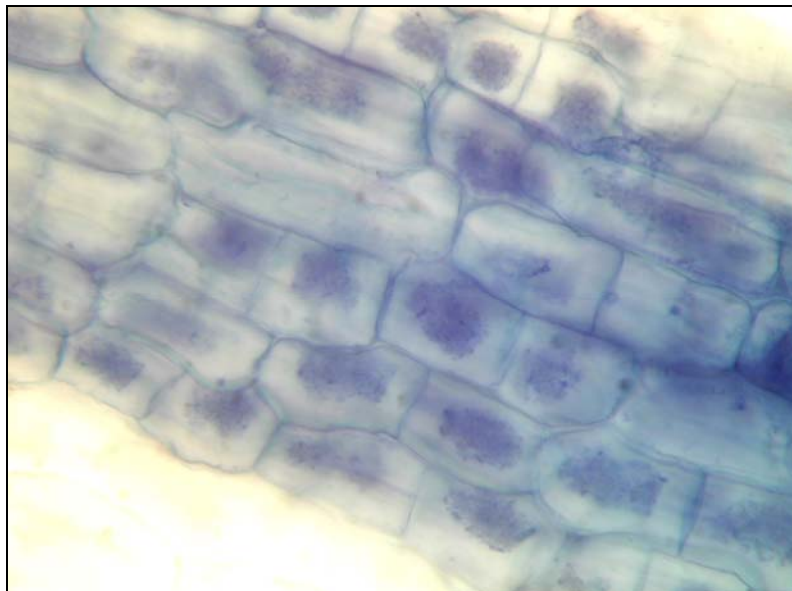


Fig. 29 – Foto con il microscopio ottico di un campione di radici giovani di olivo trattate con il Trypan blu al lattofenolo durante le analisi sulla presenza e la quantità della micorriza. Si nota la presenza fungo con i caratteristici "arbuscoli all'interno delle cellule.

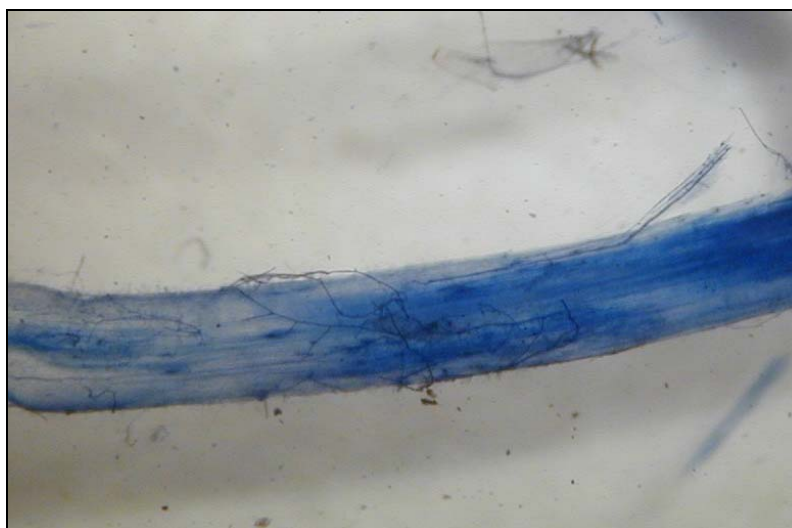


Fig. 30 – Foto con il microscopio ottico di un campione di radici giovani di olivo trattate con il Trypan blu al lattofenolo durante le analisi sulla presenza e la quantità della micorriza. Si nota la presenza fungo con le ife che si diramano all'interno della radice.

Probabilmente un rilievo effettuato durante il periodo di accrescimento, quando cioè le nuove radici non ancora raggiunto un elevato grado di differenziazione avrebbe consentito di evidenziare meglio la quantità di radici infette da funghi.

6.4 – EFFETTO DELLA SIMBIOSI SU PIANTE DELLA CV. FRANTOIO PROPAGATE PER INNESTO.

L'effetto dell'inoculazione micorrizica, rilevato al secondo anno di allevamento in vivaio, sulle piantine di cv. Frantoio propagate per innesto, è stato molto evidente. Le tre tesi di studio: piante micorrizzate e concimate (Mic+ conc+), piante micorrizzate non concimate (Mic+ conc-) e piante solo concimate (controllo) sono state confrontate valutando alcuni caratteri morfologici delle piante capaci di descrivere i differenti accrescimenti (vedi Tab. 9).

TESI	Altezza asse princ. (cm)	Lung. germ. (cm)	n° germ.	Pf chioma (g)	PF foglie (g)	Pf Rami (g)	n° foglie	A fogl. (cm²)	PF rad (g)	PS rad (g)	C/R
mic+c+	135,07 a	21,31 a	31,13 a	234,8 a	107,51 a	127,29 a	671,27 a	2394,42 a	94,62 a	26,42 a	2,48 a
mic+c-	127,4 ab	16,97 b	26,1 ab	146,28 b	59,86 b	86,42 b	392,6 b	1433,16 b	85,56 a	29,05 a	1,71 b
T controllo	125,40 b	21,41 a	20,67 b	138,04 b	63,16 b	74,88 b	351,13 b	1406,61 b	57,05 b	15,02 b	2,42 a

Tab 9 - Caratteri morfofisiologici di piante di Frantoio rilevati il 15/2', in 3 tesi differenti: micorrizzate e concimate (mic+c+), solo micorrizzate (mic+c-) e solo concimate (controllo). I valori rappresentano la media di 15 piante per tesi. In ciascuna tesi, lettere diverse indicano valori statisticamente significativi per $P \leq 0,05$.

Analizzando i singoli parametri è possibile notare come l'accrescimento generale della tesi Mic+c+ è stato il più elevato. Si osserva, infatti, che tutti i caratteri morfologici presi in considerazione hanno un valore significativamente maggiore al controllo, ad eccezione della lunghezza media dei germogli e del rapporto chioma radici che è stato inferiore al controllo nella tesi mic+c-. Questo risultato indicherebbe un maggior sviluppo dell'apparato radicale, rispetto alla chioma, che non si sarebbe verificato negli altri due trattamenti.

La tesi Mic+c- ha presentato invece livelli di accrescimento intermedi tra il Mic+c+ ed il controllo. Per molti parametri come il Pf rami, il Pf foglie e di conseguenza il Pf chioma non si riscontrano differenze significative con il controllo (Fig. 31).

Questo risultato appare di notevole interesse applicativo del momento che le piante micorrizzate, pure in assenza di trattamenti fertilizzanti, avrebbero raggiunto o superato, i valori rilevati nel controllo. In altre parole, sembrerebbe possibile affermare che la micorrizazione potrebbe evitare l'impiego dei fertilizzanti con grande beneficio sulla riduzione degli input e sulla salvaguardia ambientale.

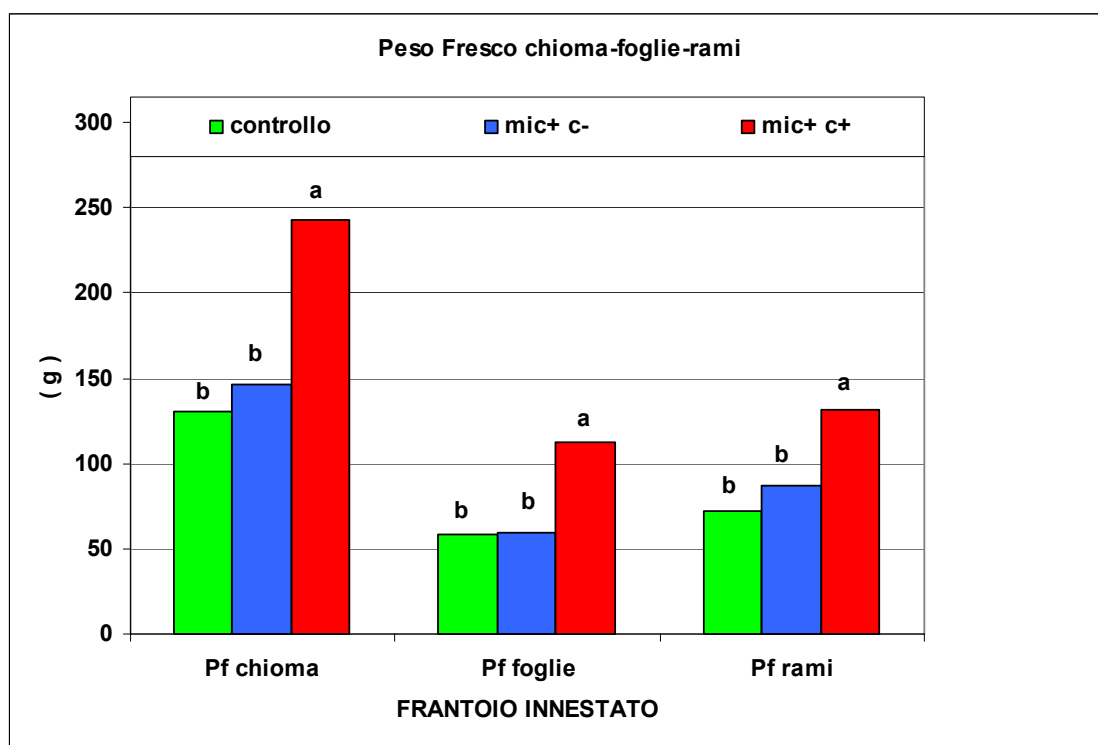


Fig 31 - Peso fresco (gr) della chioma, delle foglie e dei rami, rilevate 15/2', in 3 tesi differenti di piante di cv.Frantoio innestate, di 2 anni di età: micorrizzate e concimate (mic+c+), solo micorrizzate (mic+c-) e solo concimate (controllo). I valori rappresentano la media di 15 piante per tesi. In ciascuna tesi, lettere diverse indicano valori statisticamente significativi per $P \leq 0,05$.

Analizzando il numero e la lunghezza media dei germogli per pianta, si evince che le tesi Mic+ hanno sviluppato un numero più elevato degli stessi, tale da ipotizzare un "effetto crescita" attribuibile alla simbiosi con i funghi micorrizici. La maggiore lunghezza media dei germogli, invece, sembrerebbe dipendente dall'effetto additivo della concimazione in quanto le tesi concimate risultano significativamente migliori rispetto al trattamento mic+ c- (Fig. 32).

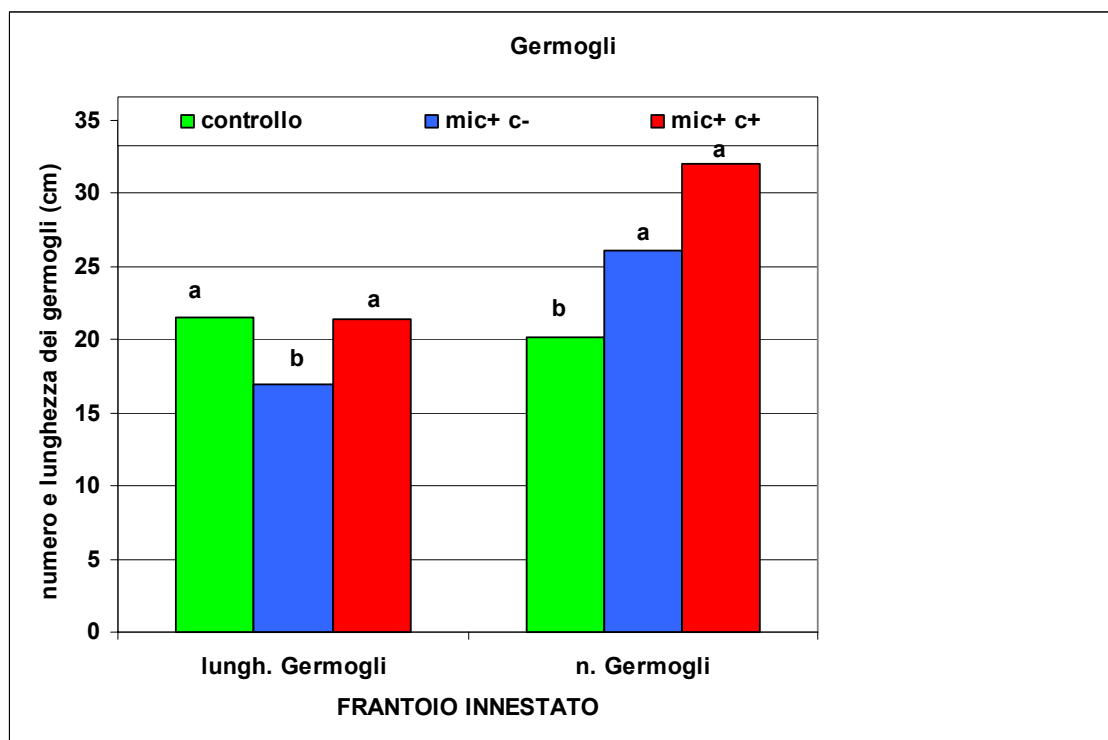


Fig. 32 - Numero e lunghezza (cm) dei germogli rilevati il 15/2, in piante di Frantoio innestate, di 2 anni di età: micorrizzate e concimate (mic+c+), solo micorrizzate (mic+c-) e solo concimate (controllo). I valori rappresentano la media di 15 piante per tesi. In ciascuna tesi, lettere diverse indicano valori statisticamente significativi per $P \leq 0,05$.

Per quanto riguarda l'apparato radicale (Fig.33) le differenze rispetto al controllo sono apparse sempre significative e di maggiore entità per il peso fresco (PF). Questo potrebbe significare che l'effetto positivo dell'infezione radicale si è tradotto in un maggiore accrescimento grazie anche ad una migliore efficienza nell'assorbimento di acqua dal terreno. E' da rilevare nella figura 30 come le due tesi micorrizzate siano state, per entrambi i parametri, statisticamente più elevate rispetto al controllo.

Un risultato molto importante e meritevole dunque di essere messo in evidenza è quello relativo all'area fogliare totale delle piante. Infatti, come evidenziano i valori della tabella 9, questo parametro è stato significativamente più elevato nella tesi Mic+c+ di circa il 70% rispetto al controllo. Un così elevato sviluppo dell'area fogliare potrebbe avere effetti positivi se si considerano gli eventi cui le piante vanno in contro al momento e dopo, la loro messa a dimora nell'oliveto. Da un lato una più ampia superficie fogliare potrebbe dar luogo ad un maggior rischio di stress idrico al momento del trapianto, in particolare quando il nuovo impianto non fosse provvisto di un sistema di irrigazione. Dall'altro lato, a prescindere dagli effetti di eventuali stress idrici, una chioma ben sviluppata, come quella del materiale vegetale di questa tesi, rappresenta un ottimo presupposto per una elevata potenzialità di crescita delle piante.

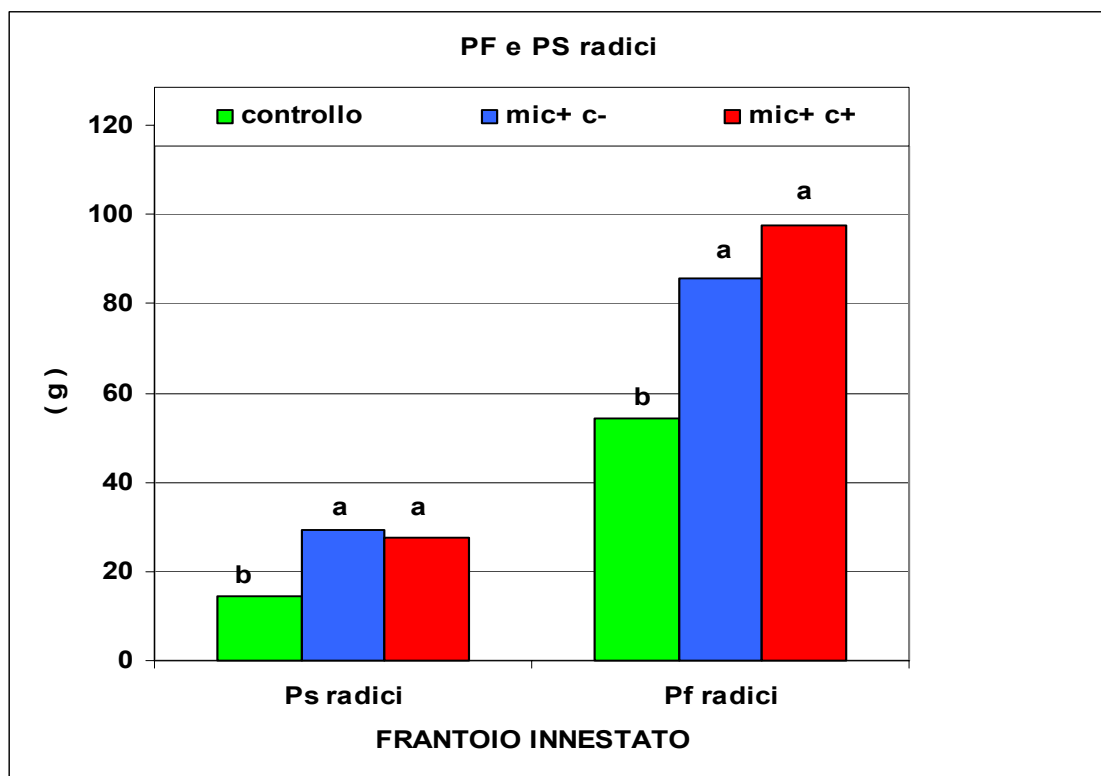


Fig. 33 - Peso fresco e Peso secco (g) della radici, rilevate il 15/2, in 3 tesi differenti di piante di cv.Frantoio innestate, di 2 anni di età: micorrizzate e concimate (mic+c+), solo micorrizzate (mic+c-) e solo concimate (controllo). I valori rappresentano la media di 15 piante per tesi. In ciascuna tesi, lettere diverse indicano valori statisticamente significativi per $P \leq 0,05$.

E' da mettere in evidenza che nel trattamento Mic+c+ le piante hanno mostrato una certa disformità per quanto riguarda le dimensioni raggiunte. Allo scopo di effettuare una valutazione più precisa degli effetti della micorrizzazione, la popolazione di piante dello stesso trattamento è stato suddivisa in tre gruppi:

- "Taglia grande": 130 cm che rappresentavano il 55%
- "Taglia media" 120 cm che rappresentavano il 35 %
- "Taglia piccola" inferiore a 115 cm che rappresentavano il 10%

Dall'esame statistico dei dati rilevati (Fig.33) si può notare come gli esemplari della classe di maggiori dimensioni hanno avuto uno sviluppo significativamente superiore della chioma rispetto alle altre due categorie mentre l'apparato radicale non si differenzia dalle piante appartenenti alla classe intermedia.

Le cause del diverso accrescimento di alcune piante del trattamento Mic+c+ non sono note. Si può, quindi supporre che le cause di tali differenze derivino non da diverse condizione d'allevamento in vivaio, ma da fattori genetici derivanti dall'innesto su semenzali che notoriamente sono soggetti ad una naturale variabilità genetica.

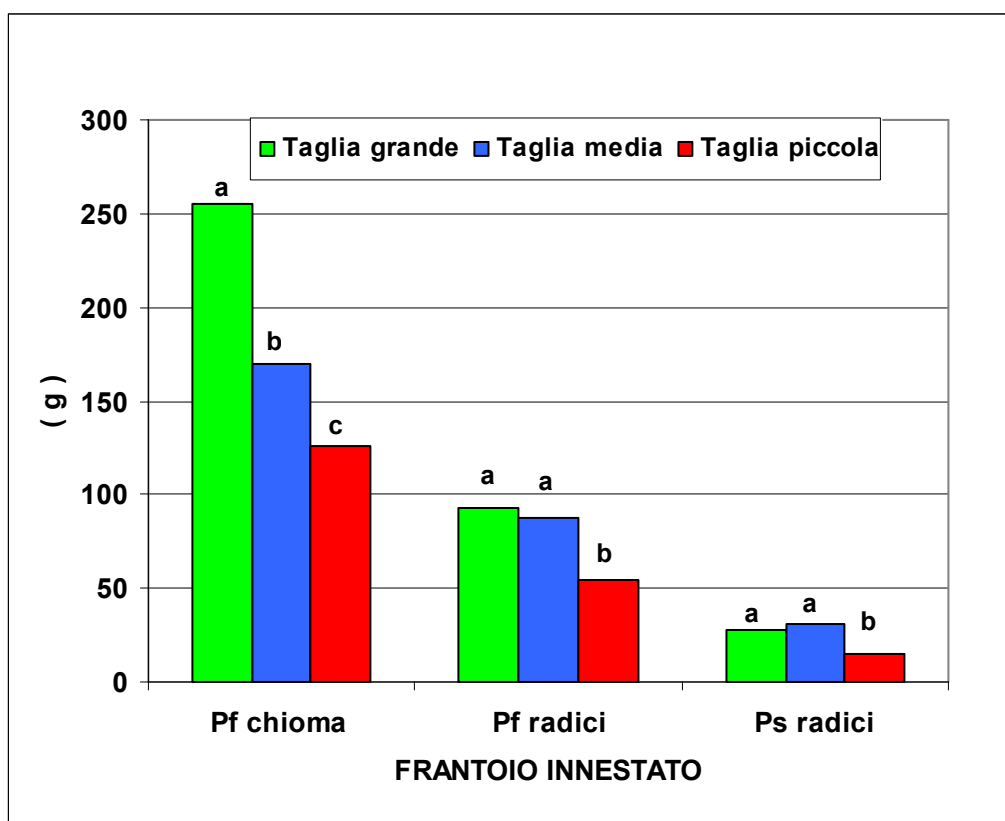


Fig. 31_ Peso fresco (g) della chioma, delle radici e peso secco delle radici, rilevate 10/2/2008, in piante di Frantoio innestate, di 2 anni di età appartenenti alla tesi micorrizzata e concimata (Mic+c+) suddivise in tre classi di sviluppo (grandi, medie e piccole). I valori rappresentano la media di 10 piante per tesi. Per ciascun parametro, lettere diverse indicano valori statisticamente significativi per $P \leq 0,05$.

CAPITOLO 7.

CONCLUSIONI

Dalla sperimentazione effettuata, l'olivo è risultato variamente sensibile dalla simbiosi micorrizica arbuscolare in relazione alle due cultivar analizzate. Le talee inoculate della cultivar "Leccino", infatti, presentano il cosiddetto "effetto crescita", cioè un aumento del peso, della lunghezza del germoglio e del numero delle foglie, evidenziando un elevato grado di risposta di tale cultivar ai funghi micorrizici presenti nel prodotto ENDORIZE MIX, quali: il *Glomus mossae*, il *Glomus intraradices*, il *Glomus sp.* e lo *Sclerocystis*.

La cultivar "Frantoio", invece, non ha mostrato una risposta altrettanto elevata alla simbiosi, anche se le piante infettate hanno presentato germogli maggiormente sviluppati rispetto al controllo; tali risultati evidenziano come possa esistere una marcata variabilità di risposta alla simbiosi tra le diverse cultivar all'interno della stessa specie vegetale.

Le due cultivar non hanno presentato differenze di rilievo per quanto riguarda la suscettibilità all'infezione radicale. Comunque gli apparati radicali, pur infettati dal fungo, non hanno subito significative variazioni di dimensione rispetto al controllo. Questo risultato farebbe supporre che i tempi intercorsi tra l'inoculazione con ENDORIZE MIX ed i rilievi distruttivi dei diversi parametri di crescita sono stati troppo ravvicinati e non hanno permesso alla simbiosi mutualistica di espletare tutte le sue funzioni, fra le quali l'aumento stesso dell'apparato radicale. E' possibile infatti, che a seguito di un più consistente sviluppo delle radici, ad esempio dopo 2-3 anni di accrescimento del materiale vegetale in campo, anche la simbiosi riesca ad esercitare i suoi effetti ad un livello superiore grazie ad una maggiore colonizzazione radicale da parte dei funghi.

Anche gli astoni della cultivar "Frantoio" propagati per innesto hanno dimostrato nettamente una marcata suscettibilità alla simbiosi micorrizica arbuscolare, manifestando differenze di sviluppo e crescita superiori rispetto al controllo rappresentato da piante standard indotte in vivaio. E'

importante evidenziare che l'introduzione in vivaio, durante le varie fasi di produzione degli astoni, da talea o da innesto, della tecnica di micorrizzazione non ha comportato né difficoltà tecnico applicative, né modificazioni significative della filiera di produzione. L'inoculo è stato applicato durante le fasi di invasatura di ciascuna pianta mediante apporto di 10 ml di Endorize Mix al di sotto dell'apparato radicale. E' molto probabile che la suddetta operazione possa essere eliminata applicando una procedura diversa basata sull'aggiunta dell'inoculo al momento in cui, i vari componenti del substrato vengono miscelati fra di loro. In questo modo si garantirebbe anche una più omogenea distribuzione dell'inoculo nel substrato di trapianto, aumentando le probabilità che le radici intercettino il materiale fungino (spore, ife, sporocarpi) aggiunto con l'inoculo. con successo. In generale, sono stati positivi e molto incoraggianti anche i risultati finali in termini di qualità del materiale vegetale: sulla base dei dati rilevati ma soprattutto della valutazione dei tecnici di vivaio, le piante si presentavano più rigogliose e meglio strutturate di quelle ottenute con il metodo tradizionale.

Anche i risultati sulla produzione dell'inoculo con procedura aziendale sono da considerare del tutto positivi. Anche se l'incidenza del costo di acquisto dell'inoculo non è molto elevato (costo attuale dell'inoculo 15 euro/litro, cioè 15 centesimi/pianta) la possibilità di produrre direttamente l'inoculo in azienda, darebbe un notevole contributo alla riduzione dei costi di produzione.

Un punto importante che necessita di ulteriore sperimentazione è quello dell'impossibilità per un'azienda vivaistica di sterilizzare il substrato sul quale far crescere le piante trappola. Non è del tutto chiaro se l'impiego di terreno non sterile potrebbe dar luogo a contaminazioni fungine con effetti negativi sull'accrescimento della pianta.

In conclusione l'impiego di trattamenti prodotti a base di funghi micorrizici può rappresentare una valida alternativa alle tecniche colturali tradizionali attualmente in uso nelle aziende vivaistiche olivicole. In particolare, l'aggiunta dell'inoculo a piante sottoposte ad una gestione standard dove è prevista la concimazione delle medesime, ha fornito risposte di notevole

rilievo, consentendo di ottenere olivi più sviluppati di circa il 50% rispetto a quelli standard. Ma un interesse forse maggiore è quello suscitato dalla possibilità di impiegare funghi micorrizici in sostituzione della concimazione, con la conseguenza di poter ridurre i costi di produzione e l'impatto ambientale.

La precoce introduzione della micorrizazione in fase di vivaio non deve essere più considerata una interessante prospettiva, bensì una realtà, che consente la produzione di materiale vegetale qualitativamente superiore, capace di superare con maggior successo la fase di trapianto e messa a dimora.

E' auspicabile, dunque, che le aziende vivaistiche prendano sempre più coscienza dei vantaggi derivanti dall'applicazione di questa biotecnologia e soprattutto della possibilità di ottenere piante di olivo di ancor più elevata qualità bio-agronomica.

L'introduzione della micorrizazione può rappresentare la base per il rilancio di una attività, che negli ultimi anni ha perso una buona parte del mercato a favore di altri paesi mediterranei. Puntare quindi sulla migliore qualità del materiale vegetale di partenza senza aumentare i costi di produzione rappresenteranno i punti di forza del comparto vivaistico olivicolo italiano del prossimo futuro.

Bibliografia

- Bagnoli L., Tognoni F.(1963) *Osservazioni sulla presenza di micorrize endotrofiche nei semenzali d'olivo (Olea europea L.) in vivaio*. Giornale botanico italiano Vol.70: 596-598.
- Bartolini G., Fiorino P., (1978) *La moltiplicazione dell'olivo per talea con la tecnica della "nebulizzazione"*: 1-16.
- Caballero J.M.;, Del Rio C. (1997) *Metodos de multiplicacion. El cultivo del olivo*. Coedicion Junta de Andalucia & ediciones Mundi-pressa, 83-105
- Catalogo S.P.O. (Società Pesciatina di Orticoltura). 8-24
- Cimato A. *Moltiplicazione dell'olivo per talea di branca* Ing.Agr., 36, 8961-8962
- Cimato A., Fiorino P., *Propagazione*. L'Olivo REDA, Bologna 53-71
- Citernesì A.S.,Giovanetti M. *Plant growth and root system morphology of Olea europea L.rooted cutting as influenced by arbuscular mycorrhizas*. Journal of Horticultural Science & Biotechnology (1998)
- Citernesì A.S., Vitigliano C.,(1996) *Effetti della simbiosi micorrizica arbuscolare su talee di diverse cultivar di Olea europea L.* Atti del convegno L'olivicoltura mediterranea: stato e prospettive della coltura e della ricerca, Cosenza
- C.O.I. *Catalogo mondiale delle cultivar di olivo*.10-19

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

- Cooper K.M. and Tinker, P.B. (1978). *Traslocation and transfer of nutrients in vesicular_arbuscular mycorrhizas. Uptake and traslocation of phosphorus, zinc and sulpjur*. New Phytol 81: 43-45.
- Deacon J.W. (2000) *Micologia moderna, traduzione di Romano Locci*. Caldermi .Edagricole
- Fajardo R, Barea J.M.(1987) *Mycorrhizal dependency in the olive tree (Olea europaea L.) Mycorrhizes: physiology and genetics*.
- Fiorino,P.,(2003), *Olea trattato di olivicoltura*, Edagricole.77-81;307-330
- Fortuna P., Morini S.,Giovanetti M., (1998). *Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on in vivo root initiation and development of micropropagated plum shoots*. Juornal of Horticultural Science & Biotechnology 73, 19-28
- Giovannetti M., (1990) *The mycorrhizal status of Arbutus unedo in relation to compatible and incompatible fungi*. Can j. Bot., 68
- Giovannetti M., (1990), *Le micorrize come agenti di lotta biologica contro I patogeni delle piante agrarie*. Inf. Fitopatologico 10:17-20
- Giovanetti M., Mosse B.,(1980) *An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots*. New Phytologist 84, 19-28
- Godini A.(2006) *Il vivaismo olivicolo ha bisogno di innovazione*. Informatore agrario n°16-2007:36-39
- Godino G., Briccoli C.(2001). *Influenza delle micorrizze sull'accrescimento in vivaio di piante di olivo*. Pubblicazione Settembre 2001 Inea.

TECNICHE DI MICORRIZZAZIONE NEL VIVAISMO OLIVICOLO

- Malucchi Q., *Il vivaismo olivicolo toscano*. Atti del Convegno Olivicoltura e politiche comunitarie di settore: ambiente, qualità e mercato (2001) Firenze.
- Morini S., et al (2003) *Effetto della simbiosi micorrizica sull'accrescimento e sull'attività fotosintetica di piante micropropagate di specie arboree da frutto*. Italus hortus e Notiziario SOI di Ortofrutticoltura. Vol.10, supplemento al n.4.
- Rallo L., (1995), *Selezione e miglioramento genetico dell'olivo in Spagna*. Olivae, 59, 46-53
- Smith, S.E: and Read D.J. (1997) *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London: 1-605
- Smith, S.E. (1982) *In flow of phosphate into mycorrhizal and non-mycorrhizal Trifolium subterraneum at different levels of soil phosphate*. New Phytol.90. 293-303
- Smith S.E. (1997) *Structural diversity in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbioses*. New Phytol 37. 373-388
- Tesi R. (1999) *Mezzi di protezione per l'orticofloro-frutticoltura ed il vivaismo*. Ed agricole.89-105
- Vola G., (2003) *Le micorrize nella pratica agricola e forestale*. Phytomagazine Speciale Micorrize. Phytoline